

갑상선 유두상 암종의 DNA 유세포 분석

— 세포 증식 표지자인 Ki-67 면역화학염색 결과와의 비교 —

인제대학교 의과대학 상계백병원 해부병리과

주 미 조 혜 제

Flow Cytometric DNA Analysis in Papillary Carcinoma of Thyroid Gland

— comparison with Ki-67 immunohistochemical staining —

Mee Joo, M.D. and Hye Je Cho, M.D.

Department of Pathology, Sanggye Paik Hospital, Inje University

Nuclear DNA content was measured using a flow cytometric method to analyze 36 paraffin-embedded and 7 fresh tissues of 43 papillary carcinomas of thyroid gland. DNA aneuploidy was found in 3 cases(6.9%) and diploidy in 40 cases(93.1%). But there were no suggestive findings in clinical history, and cytological and morphological features for aneuploidy. In 40 diploid cases, S-phase fraction(SPF) were analyzed with regard to sex, age, tumor size, presence or absence of capsular invasion, lymph node involvement and ground glass nuclei. Among the multiple factors, only the tumor size, especially the larger sized-group(above 2cm in tumor diameter) was found to have a statistically significant higher SPF than the smaller sized-group ($p<0.05$). And high SPF groups relatively well corresponded to the high risk group. Thirty nine cases of papillary carcinoma have also been evaluated for proliferative activity with Ki-67 monoclonal antibody. The average Ki-67 labeling index was 0.36% in total cases, and that of the aneuploid cases was 0.73%, which was higher than that of the diploid cases(0.33%). So. We think that the low aneuploid rate and low Ki-67 labeling index relatively well represent the usual good clinical course of this tumor and the high SPF is a suggestive finding for a high risk group. (Korean J Pathol 1996; 30: 959~965)

Key Words: DNA ploidy, Ki-67, S-phase fraction, Papillary carcinoma, Thyroid gland.

접 수: 1996년 2월 21일, 게재승인: 1996년 7월 12일

주 소: 서울시 노원구 상계7동 761-1, 우편번호 139-707

인제대학교 상계백병원 해부병리과, 주 미

*본 연구는 인제의대 장학연구비 보조(1995년)로 이루어
졌음.

서 론

갑상선 유두상 암종은 일반적으로 양호한 예후 및 임상경과를 보이거나 일부 예에서는 급격한 악성 경과를 보이기도 한다. 따라서 많은 연구에서^{1,10,12,16} 생물학적 악성도를 추정할 수 있는 인자로서 연령, 조직학적 아형, 세포학적 이형성, 갑상선 피막의 침윤, 림프절 또는 원격전이 유무 등을 들고 있으나 아직 객관성있는 예후 판단기준을 정하는 데는 어려움이 적지 않다. 최근 유세포 측정법에 의한 DNA 비배수성이 악성종양의 좋은 지표일 뿐 아니라 몇몇 종양에서는 중요한 예후추정인자로 알려지고 있다^{17,18}. 그러나 유두상 암종에서 DNA 비배수성의 비율은 보고자에 따라 0~63%까지 다양하여^{1~4,17,18} 유두상 암종에서 DNA 비배수성의 임상적 의의는 아직 불명확하다. 또한 세포주기 중 G₁, S, G₂ 및 M기에 있는 모든 세포들에서 Ki-67(MIB-1)이 발현되는 것을 이용하여 면역조직화학적으로 종양세포의 증식능을 측정함으로써 종양의 악성도 및 예후를 추정하려는 연구들이 시행되고 있다^{7,11}. 따라서 본 연구에서는 갑상선 유두상 암종에서 예후추정인자로서의 DNA 비배수성의 의의 및 Ki-67 면역조직화학염색을 통한 세포증식능의 효능을 평가하고자 한다.

재료 및 방법

1. 연구 재료

본 연구에 이용된 재료는 1989년 9월부터 1995년 6월까지 인제대학교 상계백병원에서 외과적으로 절제되어 유두상 암종으로 진단된 예들 중 파라핀 블록의 상태가 좋았던 45예의 파라핀 포매조직과 본 연구가 시작된 이후에 절제되어 신선한 조직으로 즉시 DNA 유세포 분석을 실시할 수 있었던 7예를 포함한 총 52예의 갑상선 유두상 암종이었다. 유세포 분석시 사용된 정상 조직으로는 종양 절제시 함께 절제되어 온 갑상선 조직을 이용하였고, 면역조직화학 염색시 대조군으로 갑상선 선종 10예를 포함하였다. 환자의 신상기록과 임상경과는 임상기록을 참조하였다.

2. 조직학적 검색

통상적인 방법에 따라 10% 중성 포르말린에 고정된 후 파라핀 포매를 거쳐 만든 hematoxylin-eosin (H-E)염색 표본을 광학 현미경을 통해 재검토하였

다. 종괴의 피막침윤 및 림프절 전이와 유리질양 핵, 림프구성 기질 침윤 등의 조직학적 소견과 핵내 봉입체 및 세포질의 호산성 변화(Hürthle cell change)와 같은 세포학적 소견을 관찰하였다.

3. DNA 유세포 분석

1) 파라핀 포매조직을 이용한 DNA 함량 측정: H-E염색 표본에서 괴사가 없고 고정이 잘된 부위를 선택한 후 ब्ल럭에 표시하여 파라핀 포매 조직을 50 μ m의 두께로 10개의 절편을 취하였다. 탈파라핀 과정을 거친 후 합수과정, pepsin처리, 그리고 RNA를 제거시키기 위한 ribonuclease처리를 거쳐 형광염색인 propidium iodide로 염색한 후 FACScan으로 분석하였다.

2) 신선조직을 이용한 DNA 함량 측정: 신선하게 채취된 조직을 citrate 완충액에 넣고 페트리 접시에서 가위를 이용하여 잘게 자른 다음 35 μ m 구멍 크기의 나일론 망을 이용하여 세포부유액을 걸른 후 세포 계산기를 이용하여 μ 당 7×10^3 에 세포수를 맞추었다. 정량된 세포 부유액 50 μ l를 Falcon 튜브에 옮긴 다음 trypsin완충액 900 μ l를 가하여 10분간 반응시킨 다음 trypsin inhibitor와 ribonuclease의 혼합용액 750 μ l와 10분간 반응시키고, propidium iodide 750 μ l와 10분간 암소에서 반응시킨 다음 FACScan으로 분석하였다.

3) 유세포 측정 및 분석: FACScan(Beckton-Dickinson, U.S.A.) 유세포 분석기에서 2만개 세포의 DNA 함량을 측정하여 Cellfit software를 이용하여 자동 분석하였다. 파라핀 조직의 경우에는 주로 Sum of Broad Rectangular(SOBR)방식을, 신선 조직의 경우에는 모두 Rectangular fit(Rfit)방식을 사용하여 DNA히스토그램을 얻었으며 비배수성으로 관찰되는 예들은 Polylaminar 방식으로 재검하였고 변이계수의 값이 너무 높거나 자동분석프로그램으로 용이하지 않은 경우에는 수동으로 재검하였다. 그 중 G₀/G₁ peak의 변이계수(coefficient of variance, C.V.)가 10.0%이하인 43예만을 선택하여 G₀/G₁ 극과, S-phase fraction 그리고 G₂M 극과로 이어지는 single cell cycle을 보이는 경우를 이배수성(diploidy)이라고 하였고, 그외 비정상적인 G₀/G₁ 극과를 보이는 경우를 비배수성으로 정의하였다. 분석을 통하여 얻은 합성기 분획수치(S-phase fraction:이하 SPF로 약함)와 G₂M을 더하여 증식지수(Proliferative index:이하 PI로 약함)를 얻었다. 비배수성을 보인 예들에서 G₀/G₁극과값을 비정상 G₀/G₁극과값으로 나눈 값을 DNA지표(DNA index:이하 DI로 약함)로 정하였다.

4. Ki-67(MIB-1)에 대한 면역조직화학 염색

1) **염색방법**: 파라핀 포매 조직에 적용할 수 있는 Ki-67 단일클론항체인 MIB-1(Dako Co.)을 LSAB kit (Dako Co.)을 이용하여 통상적인 Avidin-Biotin Complex(ABC)방법을 통해 염색하였다. 염색전에 자동고압멸균기에서 121C, 15기압으로 15분간 전처치를 시행하였다.

2) **Ki-67 표지 지수 산정**: Ki-67에 대한 면역조직화학 염색후 광학현미경하에서 임의로 선정한 3~5개의 400배 시야를 관찰하여 한 예당 평균 1,000개 내외의 세포를 관찰하였다. 세포의 핵에 뚜렷한 염색을 보이는 경우만을 양성으로 판정하였고, 1,000개 내외의 세포 중에서 Ki-67에 양성으로 반응한 세포 수를 백분율로 표시하였다.

Ki-67 표지 지수(%)

$$= \frac{\text{Ki-67염색에 양성을 보인 종양세포수}}{\text{관찰된 총 종양세포수(약 1,000개)}} \times 100$$

5. 통계학적 분석

이배수성인 예들의 SPF를 성별, 연령(50세 기준), 종양의 크기(2 cm 기준), 피막의 침습 및 림프절의 전이 유무에 따라 분류한 양 군 간에 통계학적으로 유의있는 차이를 알아 보기위해 Student's *t* test와 Wilcoxon 2-sample test를 이용하였고 P<0.05일 경우를 의미있는 소견으로 판정하였다.

결 과

1. 임상 및 조직학적 소견

총 52예는 조직학적으로 모두 전형적인 유두상

암종의 소견을 보였다. 환자의 연령은 24~78세로 다양하였으며 평균 연령은 37.5세였다. 남녀비는 5:47로 대부분이 여자에서 발생하였다. 종양의 크기는 0.2~8 cm이었고 평균 크기는 2 cm이었으며 36예(69%)에서 피막의 침습이 있었고 25예(48%)에서 림프절의 전이가 있었다. 부분적으로 세포질의 호산성 변화를 보인 경우는 11예(21%)가 있었으며 유리질 양 핵이 두드러진 경우는 15예로 29%를 차지하였다 (Table 1)

2. 유세포 측정에 의한 비배수성인 예와 이배수성인 예의 비교

총 52예 중 40예(77%)는 이배수성이었고, 3예(5.7%)는 비배수성이었으며 9예(17.3%)는 분석을 실패하였다.

비배수성을 보인 3예의 DI는 각각 1.30, 1.21, 1.22였으며, 3예의 연령은 각각 33, 66, 30세였고 모두 여자였다. 종양의 크기는 각각 3.5, 2 그리고 3.2 cm으로 모두 평균 크기(2 cm) 이상이었고 3예 모두에서 피막침습 및 림프절 전이가 관찰되었다. SPF는

Table 1. Histopathologic features of 52 papillary carcinoma cases of thyroid gland

	Present	Absent
	No. of cases(%)	No. of cases(%)
Capsular invasion	36(69)	16(31)
LN involvement	25(48)	27(52)
Focal Hürthle cell change	11(21)	41(79)
Many ground glassy nuclei	15(29)	37(71)
Abundant lymphocytic infiltrates	4(7.7)	48(92)

Table 2. Flow-cytometric data and histologic features in 43 papillary carcinoma cases of thyroid gland

	Size(cm)	Cap-I	LN-M	SPF(%)	G2+M(%)	PI(%)	DI
Aneuploid case 1	3.5	+	+	19.0	2.5	21.5	1.30
Aneuploid case 2	2.0	+	+	14.5	3.0	17.5	1.21
Aneuploid case 3	3.2	+	+	8.4	9.2	17.6	1.22
Diploid cases (n=40)*	2.0±1.3	28(70%)	19(47%)	7.0±3.6	2.7±1.1	9.8±4.1	1.00

*Data are positive rate or mean±standard deviation. Cap-I: capsular invasion, LN-M: lymph node metastasis, SPF: S-phase fraction., PI: proliferative index., DI: DNA index.

각각 19, 14.5, 8.4%이며 PI는 각각 21.5, 17.5, 17.6%이었다.

이배수성을 보인 40예의 평균 연령은 36.9세이며, 평균 크기는 2.0 cm이었고, 28예(70%)에서 피막침습이 관찰되었으며, 19예(47%)에서 경부 림프절전이 동반되었다. SPF는 평균 7.0%, PI는 평균 9.8%였다. (Table 2)

3. 이배수성 종양에서 SPF와 조직학적 및 임상적 소견과의 상관관계 비교

이배수성을 보인 40예의 SPF를 성별에 따라 비교하여 보면 여자(6.88±3.41)보다 남자(8.00±5.74)에서 더 높았으며, 50세 이상인 경우(6.50±3.65)보다 50세 이하인 경우(7.19±3.76)에 더 높았다. 종양의 크기와 관련해서는 2 cm 이상인 경우(8.17±3.61)가 2 cm 이하인 경우(4.98±2.88)보다 현저히 높았고, 피막침습이 있는 경우(8.44±4.18)가 없는 경우(6.41±3.36)에 비하여, 그리고 림프절 전이가 있는 경우(7.75±3.67)가 있는 경우(6.35±3.67)에 비하여 높은 수치를 보였다. 또한 유리질양 핵이 두드러진 경우(6.22±4.16)와 두드러지지 않은 경우(6.37±3.01)간에는 차이가 없었다. 양 군을 Student's *t* test와 Wilcoxon 2-sample test로 분석한 결과 크기에 따른 분류만이 각각 P-value 0.0054와 0.0091로 의미있는 소견을 보였다. 그 밖에 세포질의 호산성 변화를 부분적으로만 보인 11예 중 2예(18%)가 이배수성을 보였으나

Table 3. Correlation of sex, age, clinical & histologic features to S-phase fraction(SPF) in 40 diploid cases

	n	SFP+SD(%)	t test & W 2ST
Sex male	5	8.00±5.74	N.S.
female	35	6.88±3.41	
Age under 50 yrs	11	7.19±3.76	N.S.
over 50 yrs	29	6.50±3.65	
Tumor size over 2 cm	26	8.17±3.61	Significant
under 2 cm	14	4.98±2.88	
Capsular invasion(+)	28	8.44±4.18	N.S.
(-)	12	6.41±3.36	
LN involvement(+)	19	7.75±3.67	N.S.
(-)	21	6.35±3.67	
Open nuclei, prominent	15	6.22±4.16	N.S.
not prominent	25	6.37±3.01	

SD: standard deviation, W 2 ST: Wilcoxon 2-samples test, N.S.: not significant.

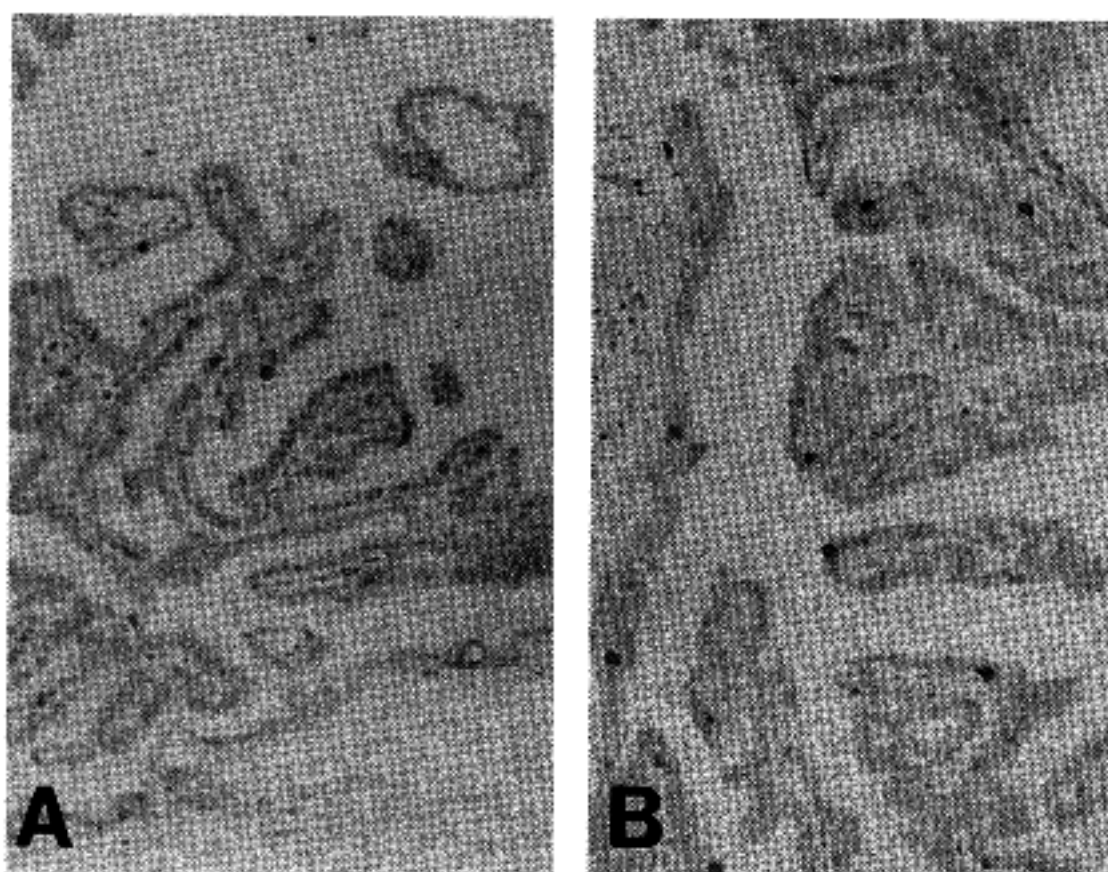


Fig. 1. Ki-67 immunohistochemical stain showing occasionally scattered positive cells in a diploidy case(A) and slightly more positive cells in an aneuploidy case(B).

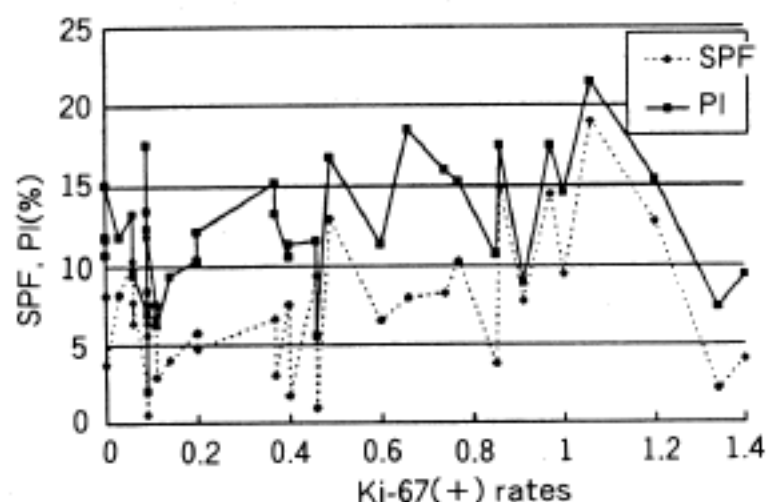


Fig. 2. Correlation of S-phase fraction (SPF), proliferative index (PI) and Ki-67 positive rates in 39 papillary carcinoma cases of thyroid gland.

이배수성을 보인 9예의 평균 SPF(5.25%)는 세포질의 호산성 변화를 보이지 않았던 이배수성인 예들의 평균 SPF(7.0%)보다 낮았다. 림프구성 기질 침윤이 현저한 경우는 4예로 그 수가 너무 적었다.

4. Ki-67 면역화학 염색 결과

Ki-67염색이 시행된 유두상 암종 45예의 평균 Ki-67 표지지수는 0.36%로 매우 낮았다. 또한 Ki-67염색과 유세포 분석을 모두 시행할 수 있었던 39예 중 비배수성인 3예의 평균 Ki-67 표지지수는 0.73% (Fig. 1B), 이배수성인 36예에서는 0.33% (Fig. 1A)로 비배수성에서 더 높았다. 대조군으로 시행된 10예의 선종성 갑상선증식의 평균 Ki-67 표지지수는 0.11%였다.

5. 합성기 분획수치, 증식지수와 Ki-67 표지지수 간의 상관성 (Fig. 2)

유세포 분석과 Ki-67염색이 모두 시행되었던 39예에서 각각 SPF와 PI가 증가함에 따라 Ki-67 표지지수가 비례적으로 증가하는 소견은 관찰할 수 없었다.

고 찰

갑상선 유두상 암종의 예후와 관련된 인자들은 많은 연구 결과^{1,10,12,16} 연령 및 성별, 종양의 크기, 조직학적 유형 및 세포학적 이형성, 갑상선 피막 및 주위 조직으로의 침윤 그리고 원격 전이 등을 들고 있다. 특히 남성에서, 40세 이상의 연령에서, 1.5 cm 이상의 크기일 경우, 조직학적으로 미분화 혹은 저분화를 보이는 경우, 그리고 경부 림프절 전이

및 원격 전이가 있는 경우를 고위험군으로 들고 있다^{6,16,21}. 최근 종양의 유세포 분석이 활발해지면서 대부분의 악성 경과를 취하는 예들에서 유세포 측정상 비배수성을 보이며 이러한 예들이 역시 고위험군에 속하므로 DNA 비배수성과 고위험군 간의 상관성을 보고하였다^{1,13-15}. 갑상선 유두상 암종의 DNA 비배수성의 비율은 0~63%^{1-4,17}로 보고자에 따라 다양하게 보고되고 있으며 Johannessen 등²의 20예의 유두상 암종을 이용한 연구에 의하면 유두상 암종의 DNA 함량과 비는 정상 갑상선 조직의 PI 보다 더 낮아 평균 3.1%에 불과하며 이러한 현상이 갑상선 유두상 암종의 양호한 임상경과와 일치한다고 보고한 바 있다. 그러나 본 연구에서 실시된 43예의 유두상 암종의 평균 PI는 10.4%로 정상 갑상선 조직의 4.25%보다 현저히 높았으나 DNA 비배수성의 비율은 40예 중 3예로 6.9%를 차지하여 비교적 낮은 결과를 보였다. 이들 3예는 모두 여자이었고 연령은 각각 30, 33 그리고 66세이었으며 종양의 크기는 모두 2 cm 이상이었고 피막과 주위조직으로의 침습이 있었고 경부 림프절전이가 동반되어 연령과 성별을 제외하고는 비교적 고위험군에 속하는 소견을 보였다. 그러나 그 수가 너무 작아 특징적인 소견을 알아내기에는 부족하였다.

또한 최근 연구 결과에 따르면 대장암과 유방암의 유세포 분석 결과 DNA 비배수성과 더불어 이배수성인 예들에서도 높은 SPF를 보이는 경우를 고위험군으로 고려해야 한다고 보고^{8,9}하고 있는데, Henriksen 등⁵의 보고에 따르면 난소의 상피성 암종의 유세포 분석 결과, SPF 10%를 기준으로 생존율이 의미있는 차이를 보인다고 하였다. 따라서 본 연구에서 93%로 대부분을 차지하였던 DNA 이배수성인 예들에서 SPF와 조직학적 및 임상적 고위험군간의 차이를 비교하여 보았는데 여자의 경우가, 50세 이하의 연령군이, 2 cm 이상의 종양이, 피막침습과 림프절전이가 있는 경우가 그렇지 않은 경우에 비하여 상대적으로 높은 수치를 보였으나 통계학적으로 의의가 있는 경우는 종양의 크기 뿐이었다($p < 0.05$). 성별간의 비교에서는 남녀비가 5:47로 남자의 증례가 적어 정확한 비교가 될 수 없었던 점이 있었으나 대부분의 항목에서 고위험군에 속하는 경우에 높은 SPF를 보이는 결과를 얻었다.

또한 Kraemer 등⁴, Bronner 등¹⁹ 및 Johannessen 등²의 연구결과에서 세포질의 호산성 변화(Hürthle cell change)가 높은 DNA 함량과 관련된다는 점을 강조하였는데 본 연구에서는 11예에서 부분적으로 호산성 변화가 관찰되었고 그 중 2예는 비배수성을 보이기도

하였지만 나머지 9예의 평균 SPF는 5.25%로 이배수성의 평균보다도 낮게 관찰되어 세포질의 호산성 변화와 비배수성 및 SPF와의 상관성은 알아보기 힘들었다.

유두상 암종의 세포학적 특징 중에서 가장 중요한 소견 중의 하나인 유리질양 핵과 DNA함량과의 관계에 대한 그동안의 연구결과도 다양하여 Kraemer등⁴은 유리질양 핵이 hypodiploidy DNA 함량을 나타낸다고 보고하였고 Lukas등²⁰은 hyperdiploidy DNA 함량과 관련되는 소견이라고 보고하였다. 또한 Johannessen등²은 유리질양 핵이 두드러진 경우에 통계학적 의의는 없으나 높은 증식수치를 보인다고 보고하였다. 그러나 본 연구결과에서는 유리질양 핵이 두드러진 15예와 그렇지 않은 25예간의 SPF는 차이를 보이지 않았다.

본 연구에서 세포증식능의 표지단백으로 사용하였던 Ki-67(MIB-1)은 Gasparini등⁸은 유방암을 대상으로 연구한 결과 유세포 분석 결과인 SPF와의 비교에서 PCNA보다 더 좋은 상관성을 보이며, SPF와 Ki-67 표지수치가 비례하고 모두 재발 유무 또는 전반적인 생존기간과 깊은 관련이 있다고 보고하였다. Grigolato등⁹은 대장암의 연구에서 DNA 함량, 비배수성, SPF 그리고 Ki-67 표지수치 모두가 중요한 예후인자로서의 역할을 하지만 서로간의 통계학적 상관관계는 관찰할 수 없었다고 하였다. 본 연구결과 Ki-67 표지수치는 전체평균 0.36%, 비배수성에서는 평균 0.73%, 이배수성에서는 평균 0.33%를 나타내어 비배수성에서 이배수성보다 유의있게 높은 수치를 보였으며, 전반적으로 낮은 Ki-67 표지수치는 유두상 암종의 낮은 증식력을 잘 반영한다고 할 수 있다. 그러나 SPF, PI, Ki-67 표지수치 간의 상관관계는 관찰할 수 없었다. 그 원인을 정확히는 알기 어려우나 이배수성을 보인 예들에서는 Ki-67 표지수치가 전반적으로 너무 낮아 각각의 예들 간에 의미있는 차이를 알아볼 수 없었던 점이 원인적 요소로 사료된다.

결 론

갑상선 유두상 암종을 대상으로 DNA 함량분석을 시행하여 종양의 조직학적 및 임상적 소견과 DNA 비배수성, 종양세포의 SPF를 비교하고, 세포 증식도 측정을 위한 Ki-67 면역염색을 시행한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

갑상선 유두상 암종의 유세포 분석 결과 93.1%는 이배수성을 보였고 적은 수의 예(3예)에서 만이 비

배수성을 보였으며, Ki-67 면역조직화학염색을 이용한 세포증식능에 관한 연구결과 이배수성을 보인 예들(0.33%)에 비하여 비배수성을 보인 예들(0.73%)에서 약간 더 높은 수치를 보이기는 하였으나 전체적으로 낮은 증식지수(0.36%)로 관찰되어 일반적으로 양호한 임상경과를 잘 반영하는 소견을 보였다. 또한 이배수성을 보인 예들 중에서도 높은 SPF를 보이는 예들은 피막침습과 림프절 전이율이 높은 경향을 보였고 종양의 크기가 2 cm 이상인 경우와 이하인 경우는 통계학적으로 유의있는 SPF의 차이를 보여 높은 SPF도 예후 추정상의 고위험군을 시사하는 하나의 소견이 될 수 있으리라고 사료된다.

참 고 문 헌

1. Joensuu H, Kleimi P, Eerolar E, Tuominen J. Influence of cellular DNA content on survival in differentiated thyroid cancer. *Cancer* 1986; 58: 2462-7.
2. Johannessen JV, Sobrinho-Simoes M, Tangen KO, Lindomo T. A flow cytometric deoxyribonucleic acid analysis of papillary thyroid carcinoma. *Lab Invest* 1981; 45: 336-41.
3. Joensuu H, Kleimi PJ. comparison of nuclear DNA content, in primary and metastatic differentiated thyroid carcinoma. *Am J Clin Pathol* 1988; 89: 35-40.
4. Kraemer BB, Srigley JR, Batsakis JG, Silva EG, Goepfert H. DNA flow cytometry of thyroid neoplasm. *Arch Otolaryngol* 1985; 111: 34-8.
5. Henriksen R, Strang P, Backstrom T, Wilander E, Tribukait B, Oberg K. Ki-67 immunostaining and DNA flow cytometry as prognostic factors in epithelial ovarian cancer. *Anticancer res* 1994; 14: 603-8.
6. Mizukami Y, Nonomura A, Michigishi T, Noguchi M, Nokamura S, Hashimoto T. Tumor proliferation-related markers in papillary thyroid carcinomas: correlation with histologic subtype. *Anticancer res* 1993; 13: 267-72.
7. Yu CC, Filipe MI. Update on proliferation-associated antibodies applicable to formalin-fixed paraffin-embedded tissue and their clinical applications. *Histochem J* 1993; 25: 843-53.
8. Gasparini G, Boracchi P, Verderio P, Bevilacqua P. Cell kinetics in human breast cancer: comparison between the prognostic value of the cytofluorimetric S-phase fraction and that the antibodies to Ki-67 and PCNA antigen detected by immunohistochemistry. *Int J Cancer* 1994; 57: 822-9.
9. Grigolato P, Berenzi A, Benetti A. Cytometric ploidy

- and proliferative activity in colorectal carcinoma. *Eur J Histochem* 1994; 32(2): 163-70.
10. Sakamoto A, Kasai N, Sugano H. Poorly differentiated carcinoma of the thyroid. *Cancer* 1983; 52: 1849-55.
 11. Rigaud C, Bogomoletz WV. Apparent lack of usefulness of monoclonal antibody Ki-67 in thyroid tumour pathology. *Pathol Res Pract* 1991; 187: 198-200.
 12. Carcangiu ML, Zampi G, Pupi A, Gastagnoli A, Rosai J. Papillary carcinoma of the thyroid: A clinicopathologic study of 241 cases treated at the University of Florence, Italy. *Cancer* 1985; 55: 805-28.
 13. Backdahl M. Nuclear DNA content and prognosis in papillary, follicular and medullary carcinomas of the thyroid[Dissertation]. Stockholm, Sweden: Karolinska Medical Institute, 1985.
 14. Backdahl M, Forsslund G. Prognostic value of nuclear DNA content in papillary thyroid carcinoma. *World J Surg* 1984; 8: 474-80.
 15. Smith SA, Hay ID, Goellner JR, Ryan JJ, McConahey WM. Mortality from papillary thyroid carcinoma. A case-control study of 56 lethal cases. *Cancer* 1988; 62: 1381-8.
 16. Schindler A-M, Van Melle G, Evequoz B, Scazziga B. Prognostic factors in papillary carcinoma of the thyroid. *Cancer* 1991; 68: 324-30.
 17. 김영태, 김진만, 서광선, 배진선. 갑상선 종양의 Flow cytometric DNA ploidy 분석. *대한병리학회지* 1995; 29: 127-35.
 18. Friedlander ML, Hedley DW, Taylor IW. Clinical and biological significance of aneuploidy in human tumours. *J Clin Pathol* 1984; 37: 961-74.
 19. Bronner MP, Clevenger CA, Edmonds PR, Lowell DM, Mcfarland MM, Livolsi VA. Flow cytometric analysis of DNA content in Hurthle cell adenomas and carcinomas of the thyroid. *Am J Clin Pathol* 1988; 99: 764-9.
 20. Lukas GL, Balazs-Gyys-Nagy I. Cytofluorimetric measurements on the DNA measurements of tumor cells in human thyroid gland. *J Cancer Res Clin Oncol* 1979; 95: 265-71.
 21. Franssila KO. Prognosis in thyroid carcinoma. *Cancer* 1975; 36: 1138-46.
-