

갑상선 결절에서 Sodium Iodide Symporter (NIS)의 발현: RT-PCR방법과 면역조직화학염색법의 비교

인제대학교 의과대학 핵의학교실, 고신대학교 의과대학 이비인후과학교실¹, 병리학교실²
배상균 · 이강대¹ · 장희경²

Expression of Sodium-iodide Symporter (NIS) in Thyroid Nodules: Comparison of RT-PCR and Immunohistochemical Staining Methods

Sang Kyun Bae, M.D., Kang Dae Lee, M.D.¹, Hee Kyung Chang, M.D.²

Department of Nuclear Medicine, Inje University College of Medicine, Department of Head & Neck Surgery¹, Pathology², Kosin University College of Medicine, Busan, Korea

Purpose: The sodium-iodide symporter (NIS) expression is an important factor in determining the sensitivity of radioiodine therapy in well-differentiated thyroid cancers. Several previous studies for the expression of NIS in thyroid tissues show diverse results. To investigate whether there is difference between methods in determining the expression of NIS in thyroid tissues of patients with thyroid nodules, we measured the expression of NIS using two different methods (RT-PCR and immunohistochemical staining) and compared the results. **Materials & Methods:** We measured the expression of NIS by reverse transcriptase-polymerase chain reaction (RT-PCR) and also by immunohistochemical staining using anti-NIS antibody in thyroid cancers and other benign thyroid diseases. We compared the results of each method. We included 19 papillary carcinomas, 1 follicular carcinoma, 1 medullary carcinoma, 4 adenomas and 7 nodular hyperplasias. **Results:** By RT-PCR analysis, 10 of 19 papillary carcinomas expressed NIS, but 1 follicular cancer didn't express NIS. By immunohistochemical staining, 15 of 19 papillary carcinomas express NIS, but 1 follicular cancer didn't express NIS. There was a significant correlation between the semiquantitative results of RT-PCR and immunohistochemical staining of NIS expression. ($p < 0.01$) **Conclusion:** Our data demonstrated that the expression of NIS in thyroid cancers and other benign diseases investigated by RT-PCR and immunohistochemical staining correlated well each other. However, by immunohistochemical staining, more NIS expression was found. (Korean J Nucl Med 38(6):511-515, 2004)

Key Words: Sodium-iodide symporter, RT-PCR, Immunohistochemical stain

서 론

분화된 갑상선암에서 방사성요오드 전신영상 및 치료는 분화된 갑상선암 세포들이 요오드를 포획한다는 관찰에서 시행되었으나, 분화된 갑상선암의 약 20-50%는 치료용량의 방사성요오드를 투여하여도 요오드를 포획하지 않음이 알려져 있다.¹⁾ 갑상선암에서는 정상세포에 비해 요오드를 섭취하는 능력이 감소되었으며 여러 종류의 요오드 대사 이상이 보고되고 있다. 분화된 갑상선암에서 방사성요오드의 포획은 방사성요오드 치료의 전제

조건이기 때문에 갑상선암세포에서 방사성요오드를 포획하는 능력을 확인하는 것이 중요하다. 갑상선 세포에서 요오드의 포획은 갑상선 호르몬 합성의 첫 단계이며, Na⁺/I⁻ symporter (NIS)라는 세포막 단백질에 의해 이루어지는 것으로 알려져 있다.²⁾

최근에 NIS가 cloning됨으로써 갑상선 조직 및 갑상선암에서의 NIS 발현에 관한 연구가 활발해지고 있다.^{3,4)} RT-PCR 방법이나 면역조직화학염색법을 이용하여 다양한 결과들이 보고되고 있다.⁵⁻¹²⁾ 하지만 그 결과는 매우 상반되어 NIS 발현이 갑상선암에서 증가하기도 하고 감소하기도 하였다. 이러한 이유로는 갑상선암에서 NIS 발현의 정도가 이질적이기 때문일 수도 있으나 검사법에 따른 차이도 고려해야 할 것이다. 저자들은 본 연구에서 갑상선암뿐 아니라 양성 갑상선 결절에서 동일한 조직을 대상으로 NIS의 발현을 면역조직화학염색법과 RT-PCR 방법을 이용해 측정하고 검사법에 따른 차이가 있는지를 비교해보았다.

• Received: 2004. 10. 29. • Accepted: 2004. 12. 7.

• Address for reprints: Sang Kyun Bae, M.D., Department of Nuclear Medicine, Inje University College of Medicine, #633-165 Gaegum-dong, Busanjin-gu, Busan 614-735, Korea
Tel: 82-51-890-6318, Fax: 82-51-895-2353
E-mail: sbae@inje.ac.kr

* 본 연구는 고신의대 기초-임상의학 연구비의 지원으로 이루어졌음

대상 및 방법

1. 대상

갑상선질환으로 갑상선절제수술을 받은 환자 32명을 대상으로 하였다. 종양의 조직학적 분류는 World Health Organization (WHO)의 분류에 따랐다. 포함대상 조직은 유두암 19예, 여포암 1예, 수질암 1예, 선종 4예, 선종양 증식증 7예였다.

2. RT-PCR (reverse transcriptase-polymerase chain reaction)

RT-PCR을 위해 수술직후 절제된 조직일부를 액화질소로 동결하여 -70°C로 보존하였다. 수술로 얻은 갑상선 조직으로부터 single-step guanine isothiocyanate 방법으로 RNA를 추출하였다. SuperScript II RNAase H-Reverse Transcriptase를 이용하여 cDNA를 합성하고 10% cDNA를 PCR증폭의 template로 사용하였다.

5X RT buffer 6 μ l, 10 mM dATP 1 μ l, 10 mM dGTP 1 μ l, 10 mM dTTP 1 μ l, 10 mM dCTP 1 μ l, MMLV reverse transcriptase (200 U/ μ l, Promega, USA) 0.5 μ l, RNase inhibitor (40 U/ μ l, Promega, USA) 0.2 μ l, 100 pM oligo dT primer 1 μ l, DEPC-DW 13.3 μ l를 PCR tube에 넣어 RT-mixture를 만들었다. RT-mixture에 total RNA용액(1 μ g/1 μ l) 5 μ l을 첨가한 뒤 mineral oil을 1방울 떨어뜨리고 실온에 10분간 두었다. 이 시험관을 42°C에서 60분간 열처리하여 cDNA를 합성하였다. 이 cDNA를 PCR에 이용하였다. PCR에 사용된 Primer는 Table 1과 같다. 10X PCR buffer 2.5 μ l, 25 mM MgCl₂ 1.8 μ l, 10 mM dATP 0.3 μ l, 10 mM dGTP 0.3 μ l, 10 mM dTTP 0.3 μ l, 10 mM dCTP 0.3 μ l, 50 pM sense 및 antisense primer 각 0.2 μ l, Taq polymerase (5U/ μ l, Promega, USA) 0.2 μ l를 혼합하고 여기에 DW를 넣어 최종 반응액이 25 μ l가 되게 하여 PCR mixture를 만들었다. PCR mixture를 PCR tube에 넣고 여기에 역전사 반응물(cDNA)을 3 μ l 넣어 혼합하였다. 다음으로 mineral oil을 1방울 떨어뜨리고 PCR 기계(Cetus 480, Perkin Elmer Co., U.S.A.)에 넣어 PCR을 실시하였다. NIS와 갑상선글로불린은 94°C에서 5분간 1 cycle을 실시한 후 94°C에서 30초, 55°C에서 1분, 72°C에서 1분으로 35 cycles를 실시하였고, TPO (thyroid peroxidase)는 95°C에서 5분간 1 cycle을 실시한 후 94°C에서 1분, 60°C에서 1분, 72°C에서 1분으로 35 cycles를 실시하였다.

PCR로 생성된 산물을 ethidium-bromide가 함유된 1.2% agarose gel에서 전기영동한 후 Quantimet 50 image analyzer를 이용하여 ethidium으로 염색된 band의 정도를 정량 분석하고, GAPDH의 정량치로 NIS mRNA양을 보정하였다.

Table 1. Primers used in RT-PCR of hNIS, Thyroglobulin and Thyroperoxidase

Primer oligonucleotides for NIS gene	
- 5' primer :	5' -TCTCTCAGTCAACGCCTCT-3'
- 3' primer :	5' -ATCCAGGATGGCCACTTCTT-3'
Primer oligonucleotides for Tg gene	
- 5' primer :	5' -AGGGAAACGGCCTTTCTGAA-3'
- 3' primer :	5' -GTGGAGAAGACGACGATTTC-3'
Primer oligonucleotides for TPO gene	
- 5' primer :	5' -ACTGCACACGCTGTGGCTGC-3'
- 3' primer :	5' -TGCAGTTTGGCTGGTCTTGC-3'

3. 면역조직화학염색법 (immunohistochemical stain)

수술로 얻은 조직을 포르말린으로 고정한 후 파라핀에 묻었다. 미세절편을 슬라이드에 옮겨 hematoxylin-eosin 염색하여 검사하였다. 면역조직화학염색은 polyclonal anti-NIS serum (anti-rat NIS, polyclonal B410-1, Euro-Diagnostica)으로 배양한 후 Tris-HCl buffer로 세척하였다. biotinylated antibody로 배양한 후 다시 세척하고 alkaline phosphatase-labeled streptavidin으로 배양하였다. 세척후 substrate chromogen solution으로 염색하고 광학현미경하에서 NIS 발현을 평가하였다. 한명의 병리전문의를 종양세포에 중등도 정도 이상 염색된 범위에 따라 발현의 정도를 4단계(0: 종양세포의 0-5%, 1: 6-25%, 2: 26-50%, 3: 50% 이상)로 반정량적으로 평가하였다.

4. 통계방법

RT-PCR로 얻은 NIS의 발현정도와 면역조직화학염색법에 의한 NIS의 발현 정도의 비교는 Pearson correlation coefficients를 이용하였다. P<0.05인 경우를 통계적으로 유의한 것으로 간주하였다.

결 과

1. RT-PCR법에 의한 NIS의 발현정도

유두암 19명중 10예에서 NIS의 발현이 있었으며, 9예에서 NIS의 발현이 없었다. 여포암 1예와 수질암 1예는 발현이 없었다. 선종 4명중 2예, 선종양 갑상선종 7명중 4예에서 NIS의 발현을 보였다(Fig. 1, Table 2).

2. 면역조직화학염색법에 의한 NIS의 발현정도

유두암 19명중 15예에서 NIS 발현을 관찰할 수 있었다. 여포암 1예는 NIS 발현이 없었다. 선종 4예중 3예, 선종양 갑상선종 7예중 6예에서 발현이 있었다(Fig. 2, Table 3).

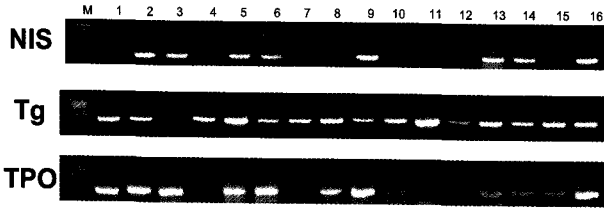


Fig. 1. RT-PCR analysis of NIS, Tg, TPO. 1; follicular cancer, 2-4; follicular adenoma, 5-8; nodular hyperplasia, 9-14; papillary cancer, 15; medullary cancer, 16; normal control. NIS; sodium-iodide symporter, Tg; thyroglobulin, TPO; thyroid peroxidase.

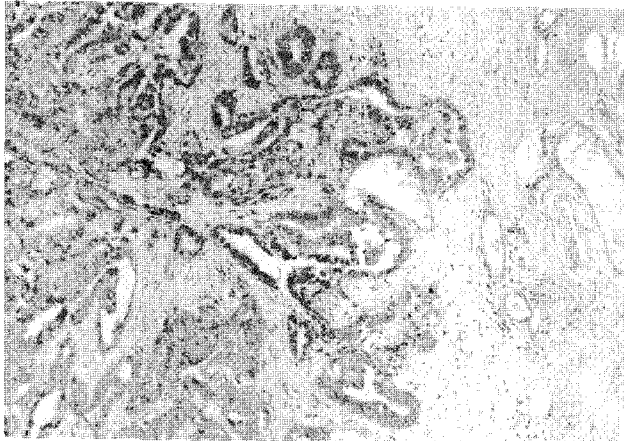


Fig. 2. NIS immunohistochemistry. Strong cytoplasmic positive reaction for NIS is shown in papillary carcinoma (x 200).

Table 2. Results of RT-PCR

	NIS (+)	Tg (+)	TPO (+)
Papillary carcinoma	10/19	10/19	16/19
Follicular carcinoma	0/1	1/1	1/1
Medullary carcinoma	0/1	1/1	1/1
Adenoma	2/4	4/4	3/4
Adenomatous hyperplasia	4/7	7/7	5/7

NIS: sodium-iodide symporter, Tg: thyroglobulin, TPO: thyroid peroxidase

3. RT-PCR방법과 면역조직화학염색법에 의한 NIS 발현 비교

RT-PCR방법에 의한 NIS의 발현 정도와 면역조직화학염색의 정도를 반정량적으로 평가하여 비교한 결과 두 검사의 결과 사이에 유의한 상관관계가 있었다(Table 4, 5, p<0.001).

고 찰

동일한 환자의 조직을 재료로 하여 RT-PCR 방법과 면역조직화학염색법으로 NIS 발현을 비교한 이 연구에서 두 검사 사이에 발현정도는 양의 상관관계가 있었으나, RT-PCR방법에 비

Table 3. Results of Immunohistochemical Stain

	NIS (+)
Papillary carcinoma	15/19
Follicular carcinoma	0/1
Medullary carcinoma	0/1
Adenoma	3/4
Adenomatous hyperplasia	6/7

Table 4. Comparison of the results of RT-PCR and semi-quantitative immunohistochemical stain of all specimens

RT-PCR	Immunohistochemical stain			
	0	1	2	3
-	8	2	5	1
+		1	9	6

Score of immunohistochemical stain: 0; 1-5% of tumor cells are positive, 1; 6-25% of tumor cells are positive, 2; 26-50% of tumor cells are positive, 3; more than 50% are positive

Pearson $\chi^2 = 13.05$, p<0.01

Linear-by-linear association 12.5, p<0.001

Table 5. Comparison of the results of RT-PCR and semi-quantitative immunohistochemical stain for well-differentiated cancer

RT-PCR	Immunohistochemical stain			
	0	1	2	3
-	5	1	4	
+		1	4	5

Score of immunohistochemical stain: 0; 1-5% of tumor cells are positive, 1; 6-25% of tumor cells are positive, 2; 26-50% of tumor cells are positive, 3; more than 50% are positive

Pearson $\chi^2 = 10.0$, p<0.05

Linear-by-linear association 8.7, p<0.01

해 면역조직화학염색법으로 NIS발현을 더 많이 찾을 수 있었다. RT-PCR법으로는 48%, 면역조직화학염색법으로는 21%의 갑상선암에서 NIS의 발현이 관찰되지 않았다.

분화된 갑상선암의 방사성요오드 검사와 치료에 있어서 갑상선암이 요오드를 포획하는 능력이 중요한 전제조건이 된다. 하지만 분화된 갑상선암의 약 20-50%에서는 방사성요오드를 투여하더라도 요오드를 섭취하지 않는 것으로 알려져 있다.¹¹⁾ 이 연구에서 RT-PCR법으로는 48%, 면역조직화학염색법으로는 21%의 갑상선암에서 NIS의 발현이 관찰되지 않았다. NIS의 발현이 소실되었다면 갑상선암 세포의 요오드 섭취능력도 상실된 것으로 판단되며, NIS 발현을 측정하는 것은 방사성요오드 치료의 반응 여부를 예측하는데 도움을 줄 것으로 생각된다.

요오드는 갑상선호르몬의 필수구성요소로서 갑상선세포내로 요오드의 섭취는 갑상선호르몬 생산의 첫 단계이다. 갑상선은 혈액내 농도에 비해 20-40배 높게 요오드를 농축하는 능력이 있으

며, 갑상선세포내로 요오드의 섭취는 NIS라 알려진 세포막 단백질에 의해 이루어진다.²⁾ NIS 유전자가 쥐의 갑상선세포 FRTL-5에서 처음으로 밝혀졌고, 이어 인간 NIS도 클로닝됨으로써 갑상선조직과 갑상선 질환에서 NIS 발현에 관한 많은 연구가 행하여지게 되었다.³⁾

갑상선암세포에서 NIS의 발현은 다양한 방법으로 조사되고 있으며 그 결과도 매우 다양하다. RT-PCR방법을 이용한 대부분의 연구에서 정상세포에 비해 갑상선암세포에서 NIS의 발현이 매우 감소되어 있거나 소실되었다고 보고되고 있다.¹³⁻¹⁶⁾ 저자들의 연구에서도 RT-PCR방법을 이용했을 때 48%의 환자에서 NIS 발현을 관찰할 수 없었다. 이러한 결과는 갑상선암세포에서 방사성요오드의 섭취감소가 NIS 발현감소와 연관이 있다는 것을 잘 설명해 준다.

하지만, Saito 등¹⁷⁾은 노던블롯분석, 면역블롯검사, 면역조직화학염색법을 통해 갑상선암세포에서 NIS의 발현이 환자들 사이에 변동은 있지만 정상세포보다 높다는 보고를 하였다. 이들은 갑상선암세포에서 NIS 발현의 증가 기전은 정확히 알 수 없지만 갑상선암세포에서 adenylate cyclase 활성도가 증가해 있다는 연구결과와 NIS mRNA와 단백질 발현이 cAMP에 의해 촉진된다는 연구결과에 비추어 보아 증가된 adenylate cyclase 활성도가 NIS발현에 중요한 역할을 할 것으로 추정하고 있다. NIS 발현이 충분함에도 불구하고 갑상선암세포가 방사성요오드를 섭취하지 못하는 것은 갑상선암 환자에서 NIS가 불활성일 것이라는 추측을 할 수 있다. 하지만 이러한 추측에 대한 검증 연구는 아직 없어 앞으로 연구가 필요한 분야이다.

갑상선암세포에서 NIS의 발현을 보는 또 다른 방법으로 면역조직화학염색법이 이용되고 있다. Jhiang 등¹⁰⁾은 다클론 항체를 이용한 면역조직화학염색법으로 갑상선암에서는 NIS의 발현이 없다고 하였으며, Caillou 등⁹⁾은 항헵티드 항체를 이용한 면역조직화학염색법에서 갑상선암세포에서 NIS의 발현이 현저히 감소되어 있다고 하였다. 저자들은 상표화되어 있는 다클론 항체를 이용한 면역조직화학염색법 결과 갑상선암 환자의 21%에서 NIS발현을 관찰할 수 없었다. 단클론 항체를 사용하는 것과 다클론 항체를 사용하는 것에 따른 차이도 고려할 수 있겠지만 두 항체를 같이 이용한 한 연구에서는 그 차이점에 대해 특별히 기술하고 있지 않다.¹⁸⁾ 앞서 인용한 Saito 등¹⁷⁾의 연구에서는 면역조직화학염색법에서도 갑상선암세포에서 NIS의 발현이 높다고 하여 다른 연구자들과는 상반된 결과를 보고하였다.

NIS 발현과 방사성요오드 섭취정도와와의 비교연구에서 높은 양성예측도를 보인다는 연구결과가 있다.^{19,20)} 하지만 Saito 등^{21,22)}은 NIS 단백질의 양과 요오드 섭취가 일치 하지 않음을 보고하였다. 따라서 아직은 밝혀지지 않은 TSH-의존성의 요소가

NIS 활성을 조절할 것으로 생각되고 있다.²³⁾ 갑상선암세포에서 방사성요오드의 섭취의 전제조건으로 TSH의 상승이 필요하다는 것이 알려져 있으며, 갑상선암세포는 TSH에 대한 반응이 불완전할 것을 시사한다.^{24,25)} 실제로 갑상선암세포에서 TSH에 대한 친화성과 TSH 결합이 감소되어 있다는 것이 밝혀져 있다. 저자들의 연구에서는 NIS 발현단계에 대한 비교만 하였고, 실제 방사성요오드 섭취여부와의 비교하지 않아 이들 주장에 대한 연구가 더 필요할 것으로 생각된다.

현재까지 NIS 발현에 관한 연구에서 다양한 결과를 보이는 정확한 이유는 알 수 없지만 갑상선암에서 NIS 발현이 아주 이질적(heterogenous)인 것이 한 이유가 될 수 있다.⁹⁾ 또 연구자에 따라 연구방법이 매우 다르다는 것이 한 이유가 될 수 있다. 저자들의 연구에서 RT-PCR방법에서 면역조직화학염색법보다 NIS 발현이 낮은 이유로는 RT-PCR에 이용된 조직의 양이 매우 적어 이질적일 수 있는 조직의 일부만을 얻어 검사한 점을 고려해야겠다. 한편 RT-PCR방법에서는 NIS mRNA의 수준에서의 정보만을 제공하므로 전사 이상이나 전사후 이상에 의한 NIS 발현이상을 반영하지 못한다는 점이 지적되고 있다.²⁶⁾ 반면에 면역조직화학염색에 의한 검사법은 NIS 단백질의 발현을 조사할 수 있다. 따라서, 같은 개체내에서도 갑상선암 조직내에서 NIS의 발현이 다양하고 검사법에 의한 차이도 있을 수 있다. 저자들의 연구에서도 RT-PCR법과 면역조직화학염색법에 따른 차이가 관찰되었으며 면역조직화학염색법으로 더 많은 NIS 발현을 볼 수 있었다. 동일한 환자의 갑상선암조직을 대상으로 NIS 발현을 조사하는 여러 방법에 대한 비교연구는 거의 없어 저자들의 연구결과로 일반화할 수 없지만 면역조직화학염색법이 비교적 간편하고 정확하게 NIS 발현을 조사하는 방법이라 생각된다.

하지만, 이미 기술하였듯이 NIS 발현만으로는 갑상선암세포에서의 방사성요오드 섭취를 모두 예측할 수 없다는 연구가 있어 갑상선암 환자에서 NIS 발현과 방사성요오드 치료시 방사성요오드의 섭취 여부와의 관계에 대한 추가 연구가 필요하다.

요 약

목적: 갑상선세포에서 요오드의 섭취는 갑상선호르몬 합성의 첫 단계이며, sodium iodide symporter (NIS)라는 세포막 단백질에 의해 이루어지는 것으로 알려져 있고 NIS 유전자가 클로닝됨으로써 NIS 발현을 직접 관찰하는 것이 가능해졌다. 하지만, 갑상선암을 비롯한 갑상선 결절과 정상 조직에서의 NIS 발현은 검사방법과 대상에 따라 아주 다양한 결과를 보이고 있다. 따라서 이 연구에서는 갑상선암을 비롯한 여러 갑상선질환에서 NIS의 발현여부와 정도를 두 가지 서로 다른 RT-PCR방법과 면역조직

화학염색법으로 조사하여 비교하였다. **대상 및 방법:** 갑상선절제술을 받은 32명의 조직을 이용하였다. 슬후 병리학적 진단은 유두암 19명, 여포암 1명, 수질암 1명, 선종 4명, 선종양 갑상선종 7명이었다. RT-PCR방법을 이용하여 갑상선글로불린, NIS, 갑상선과산화효소의 발현을 관찰하였고, 항NIS 항체를 이용하여 면역조직화학염색을 시행하여 NIS발현 정도를 반정량적으로 평가하고, 그 결과를 각각 비교하였다. **결과:** RT-PCR의 결과에서 유두암 19명중 10예에서 NIS의 발현이 있었다. 여포암 1예와 수질암 1예는 NIS 발현이 없었다. 선종 4명중 2예, 선종양 갑상선종 7명중 4예에서 NIS의 발현이 있었다. 면역조직화학염색법으로는 유두암 19명중 15예에서 발현이 있었고, 여포암 1예는 발현이 없었다. 선종 4예중 3예, 선종양 갑상선종 7예중 6예에서 발현이 있었다. RT-PCR방법에 의한 NIS의 발현 정도와 면역조직화학염색의 정도를 반정량적으로 평가하여 비교한 결과 각 검사의 결과 사이에 유의한 양의 상관관계가 있었다($p < 0.001$). **결론:** RT-PCR방법과 면역조직화학염색법으로 조사한 NIS의 발현 정도는 양의 상관관계가 있었으나, RT-PCR방법에 비해 면역조직화학염색법으로 NIS발현을 더 많이 찾을 수 있었다.

References

1. Dulgeroff AJ, Hershman JM. Medical therapy for differentiated thyroid carcinoma. *Endocr Rev* 1994;15:500-15.
2. Spitzweg C, Heufelder AE. Update on the thyroid sodium iodide symporter: A novel thyroid antigen emerging on the horizon. *Eur J Endocrinol* 1997;137:22-3.
3. Dai G, Levy O, Carrasco N. Cloning and characterization of the thyroid iodide transporter. *Nature* 1996;379:458-60.
4. Smanik PA, Liu Q, Furminger TL, Ryu K, Xing S, Mazzaferri EL, et al. Cloning of the human sodium iodide symporter. *Biochem Biophys Res Commun* 1996;226:339-45.
5. Arturi F, Russo D, Schlumberger M, du Villard JA, Caillou B, Vigneri P, et al. Iodide symporter gene expression in human thyroid tumors. *J Clin Endocrinol Metab* 1998;83:2493-6.
6. Lazar V, Bidart JM, Caillou B, Mahe C, Lacroix L, Filetti S, et al. Expression of the Na⁺/I⁻ symporter gene in human thyroid tumors: A comparison study with other thyroid-specific genes. *J Clin Endocrinol Metab* 1999;84:3228-34.
7. Ryu KY, Senozkoeff ME, Smanik PA, Wong MG, Siperstein AE, Duh QY, et al. Development of reverse transcription-competitive polymerase chain reaction method to quantitate the expression levels of human sodium iodide symporter. *Thyroid* 1999;9:405-9.
8. Park HJ, Kim JY, Park KY, Gong G, Hong SJ, Ahn IM. Expressions of human sodium iodide symporter mRNA in primary and metastatic papillary thyroid carcinomas. *Thyroid* 2000;10:211-7.
9. Caillou B, Troalen F, Baudin E, Talbot M, Filetti S, Schlumberger M, et al. Na⁺/I⁻ symporter distribution in human thyroid tissues: An immunohistochemical study. *J Clin Endocrinol Metab* 1998;83:4102-6.
10. Jhiang SM, Cho JY, Ryu KY, DeYoung BR, Smanik PA, McGaughy VR, et al. An immunohistochemical study of Na⁺/I⁻ symporter in human thyroid tissues and salivary gland tissues. *Endocrinology* 1998;139:

- 4416-9.
11. Castro MR, Bergert ER, Beito TG, Roche PC, Ziesmer SC, Jhiang SM, et al. Monoclonal antibodies against the human sodium iodide symporter: Utility for immunocytochemistry of thyroid cancer. *J E.-doocrinol* 1999; 163:495-504.
12. Castro MR, Bergert ER, Beito TG, McIver B, Goellner JR, Morris JC. Development of monoclonal antibodies against the human sodium iodide symporter: Immunohistochemical characterization of this protein in thyroid cells. *J Clin Endocrinol Metab* 1999;84:2957-62.
13. Smanik PA, Ryu KY, Theil KS, Mazzaferri EL, Jhiang SM. Expression, exon-intron organization, and chromosome mapping of the human sodium iodide symporter. *Endocrinology* 1997;138:3555-8.
14. Mian C, Lacroix L, Alzieu L, Nocera M, Talbot M, Bidart JM, et al. Sodium iodide symporter and pendrin expression in human thyroid tissues. *Thyroid* 2001;11:825-30.
15. Ringel MD, Anderson J, Souza SL, Burch HB, Tambascia M, Shriver CD, et al. Expression of the sodium iodide symporter and thyroglobulin genes are reduced in papillary thyroid cancer. *Mod Pathol* 2001; 14:289-96.
16. Liou MJ, Lin JD, Chan EC, Liu FH, Chao TC, Weng HF. Detection of mrna of sodium iodide symporter in benign and malignant human thyroid tissues. *Cancer Lett* 2000;160:75-80.
17. Saito T, Endo T, Kawaguchi A, Ikeda M, Katoh R, Kawaoi A, et al. Increased expression of the sodium/iodide symporter in papillary thyroid carcinomas. *J Clin Invest* 1998;101:1296-300.
18. Spitzweg C, Joba W, Schriever K, Goellner JR, Morris JC, Heufelder AE. Analysis of human sodium iodide symporter immunoreactivity in human exocrine glands. *J Clin Endocrinol Metab* 1999;84:4178-84.
19. Min JJ, Chung JK, Lee YI, Jeong JM, Lee DS, Jang JJ, et al. Relationship between expression of the sodium/iodide symporter and ¹³¹I uptake in recurrent lesions of differentiated thyroid carcinoma. *Eur J Nucl Med* 2001;28:639-45.
20. Castro MR, Bergert ER, Goellner JR, Hay ID, Morris JC. Immunohistochemical analysis of sodium iodide symporter expression in metastatic differentiated thyroid cancer: Correlation with radioiodine uptake. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86:5627-32.
21. Saito T, Endo T, Kawaguchi A, Ikeda M, Nakazato M, Kogai T, et al. Increased expression of the Na⁺/I⁻ symporter in cultured human thyroid cells exposed to thyrotropin and in Graves' thyroid tissue. *J Clin Endocrinol Metab* 1997;82:3331-6.
22. Kogai T, Endo T, Saito T, Miyazaki A, Kawaguchi A, Onaya T. Regulation by thyroid-stimulating hormone of sodium/iodide symporter gene expression and protein levels in FRTL-5 cells. *Endocrinology* 1997; 138:2227-32.
23. Kaminsky SM, Levy O, Salvador C, Dai G, Carrasco N. Na⁽⁺⁾-I⁻ symport activity is present in membrane vesicles from thyrotropin-deprived non-I⁽⁻⁾-transporting cultured thyroid cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1994;91:3789-93.
24. Goldman JM, Line BR, Aamodt RL, Robbins J. Influence of triiodothyronine withdrawal time on ¹³¹I uptake postthyroidectomy for thyroid cancer. *J Clin Endocrinol Metab* 1980;50:734-9.
25. Schlumberger M, Charbord P, Fragu P, Gardet P, Lumbroso J, Parmentier C, et al. Relationship between thyrotropin stimulation and radioiodine uptake in lung metastases of differentiated thyroid carcinoma. *J Clin Endocrinol Metab* 1983;57:148-51.
26. Trouttet-Masson S, Selmi-Ruby S, Bernier-Valentin F, Porra V, Berger-Dutrieux N, Decaussin M, et al. Evidence for transcriptional and posttranscriptional alterations of the sodium/iodide symporter expression in hypofunctioning benign and malignant thyroid tumors. *Am J Pathol* 2004;165:25-34.