

## 근치적 절제술을 시행한 바터씨 팽대부암에서 Ki-67과 VEGF의 예후인자로서의 가능성

### Ki-67 and VEGF as Possible Prognostic Factors in Radically-resected Ampulla of Vater Cancer

**Purpose:** Ampulla of Vater cancer has a more favorable prognosis and survival than other malignant periampullary tumors. The pathologic staging of ampulla of Vater carcinoma is a key determinant of the patient's prognosis. However, we have often encountered patients in whom the course of their disease differed substantially from what would be predicted based on their clinical staging, which highlights the need to consider additional predictive factors. We applied an immunohistochemical technique to examine the expression of Ki-67 and VEGF in radically-resected ampulla of Vater carcinomas, and then compared the status of expression with several clinicopathologic factors.

**Methods:** Sixty-four patients who underwent curative resection for ampulla of Vater cancer between January 1992 and December 2006 at the Yonsei University College of Medicine were reviewed. The relationships between the expression of molecular markers and clinicopathologic factors were determined.

**Results:** There was no relationship between the clinicopathologic characteristics and the expression of molecular markers in patients with ampulla of Vater cancer. Among the clinicopathologic characteristics, lymph node metastasis was identified as an independent factor of survival after curative resection for ampulla of Vater carcinoma.

**Conclusion:** Measurement of Ki-67 and VEGF in patients with ampulla of Vater carcinoma may have an important role in identifying the poor prognostic group.

김국진, 홍순원<sup>1</sup>, 박준성, 황호경,  
김재근, 김경식, 최진섭, 윤동섭,  
이우정, 지훈상

연세대학교 의과대학 외과학교실, 병리학 교실<sup>1</sup>

Kuk Jin Kim, M.D., Soon Won Hong, M.D.<sup>1</sup>, Joon Seong Park, M.D., Ho Kyung Hwang, M.D., Jae Keun Kim, M.D. Kyung Sik Kim, M.D., Jin Sub Choi, M.D., Dong Sup Yoon, M.D., Woo Jung Lee, M.D., Hoon Sang Chi, M.D.

Department of Surgery and <sup>1</sup>Pathology, Yonsei University College of Medicine, Seoul, Korea

#### 책임저자

윤 동 섭  
서울시 강남구 언주로 612 (도곡동 146092)  
영동 세브란스병원 외과학 교실  
Tel: 02-2019-3370  
Fax: 02-3462-5994  
E-mail: yds6110@yuhs.ac

**Key word :** Ampulla of Vater cancer, Ki-67, VEGF

**중심 단어 :** 바터씨 팽대부암, Ki-67, VEGF

Received: 2008. 8. 29

Accepted: 2008. 9. 25

## 서 론

팽대부는 해부학적으로 담관, 췌관이 합류된 뒤 십이지장과 만나는 부분을 일컫는 용어로 유두부(papilla)라고도 불린다. 팽대부 주위암의 약 6-12%를 차지하는 바터씨 팽대부암은 특수한 해부학적 구조로 인하여, 다른 팽대부주위암들에 비해 초기에 증상이 발현되어 수술적 절제가 가능한 경우가 많으며, 수술 후 5년 생존율은 약 30-60%정도로, 다

른 팽대부주위암들에 비하여 양호한 예후를 보이고 있다.<sup>1,2</sup>

현재까지 바터씨 팽대부암에서 종양의 크기, 임파선 전이 상태, 종양의 침윤 깊이, 종양의 분화도, 수술 시 절제연 확보 여부 등이 일반적인 예후인자로 알려져 있다.<sup>1-8</sup> 하지만 근치적 수술이 시행된 환자들에서 임상적인 병기가 동일한 경우에도 치료성적이나 예후가 동일하지 않아 지금까지 알려진 인자들 외에 다른 분자생물학적 인자들도 바터씨 팽대부암의 예후에 관여할 것으로 생각되어졌다. 그래서, 최근에는 분자생물학의 발전에 발맞추어 종양유전자들과 예후와

의 연관성을 찾아보려는 연구들이 많이 행해지고 있다. 이 중 Ki-67 항원은 세포의 증식능을 정확히 반영하는 물질 중 하나로 생각되어지고 있으며, 이 물질의 발현도와 여러 종양과의 연관성, 예후인자로서의 가능성에 대한 연구가 많이 이루어지고 있다.<sup>9-13</sup> 또한 VEGF(Vascular endothelial growth factor)는 여러 소화기암에서 종양의 성장과 전이에 필수적인 신생혈관 형성에 중추적 역할을 하는 인자로 알려져 있으며,<sup>14,15</sup> 간, 유방, 방광, 뇌, 소화기, 난소 등의 악성종양에서 VEGF 발현이 이들 악성종양의 국소 침윤과 전이에 관련이 있다는 보고가 많으나, 바터씨 팽대부암에서 VEGF 발현에 대한 연구는 드물고 보고자들 간에 상반된 결과를 제시하고 있다.<sup>16-24</sup>

따라서 현재까지 알려진 임상병리학적 요인들 외에 분자생물학적 요인이 바터씨 팽대부암 환자들의 예후 판단에 유용할 수 있다면, 치료방법, 수술 후 추적관찰 등에 큰 도움을 가져올 수 있을 것이다.

본 연구에는 바터씨 팽대부암으로 진단받고 근치적 수술을 시행한 환자들을 대상으로 Ki-67항원, VEGF 발현 정도를 면역조직화학염색으로 측정하여 예후인자로서의 가능성에 대하여 분석하여 보고하고자 한다.

## 방 법

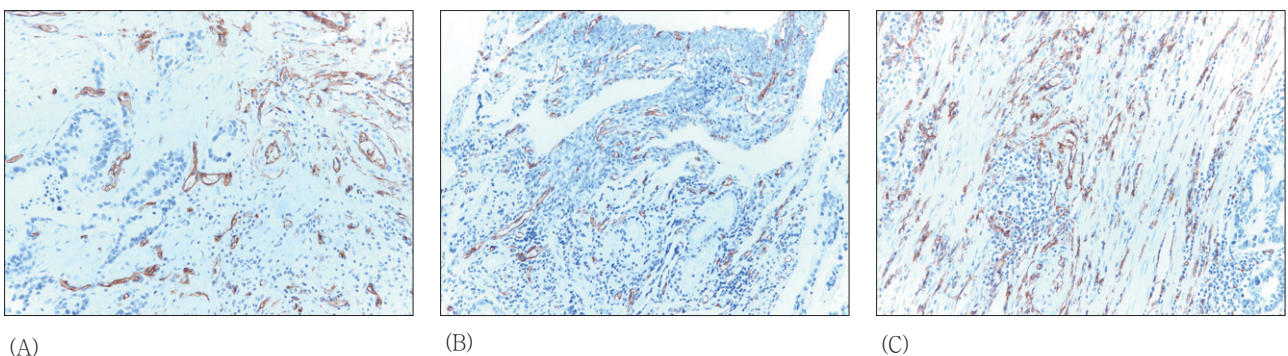
### 1. 대상

1992년 1월 1일부터 2006년 12월 31일까지 연세대학교 의과대학 외과학교실에 입원하여 바터씨 팽대부암으로 진단하고 근치적 수술을 시행한 환자 142명 중, 조직의 보관 상태가 양호하고 의무기록과 수술 후 생존 여부를 조사할 수 있었던 환자 64명을 대상으로 후향적 연구를 시행하였다. 모든 환자들은 수술 후에 병리조직학적으로 선암으로 진

**Table 1.** Correlation between Ki-67 expression and clinicopathological characteristics

| Variables         | Ki-67<br>(negative) | Ki-67<br>(weak) | Ki-67<br>(positive) | p-value |
|-------------------|---------------------|-----------------|---------------------|---------|
| Sex               |                     |                 |                     | 0.561   |
| Male              | 26                  | 4               | 4                   |         |
| Female            | 22                  | 6               | 2                   |         |
| Age (years)       |                     |                 |                     | 0.150   |
| <60               | 30                  | 3               | 4                   |         |
| ≥60               | 18                  | 7               | 2                   |         |
| Morphology        |                     |                 |                     | 0.224   |
| Non-ulcer         | 33                  | 6               | 2                   |         |
| Ulcer             | 15                  | 4               | 4                   |         |
| Tumor size (cm)   |                     |                 |                     | 0.497   |
| <2                | 26                  | 4               | 2                   |         |
| ≥2                | 22                  | 6               | 4                   |         |
| Depth of invasion |                     |                 |                     | 0.557   |
| T1/2              | 27                  | 5               | 2                   |         |
| T3/4              | 21                  | 5               | 4                   |         |
| LN metastasis     |                     |                 |                     | 0.415   |
| Positive          | 14                  | 6               | 3                   |         |
| Negative          | 33                  | 4               | 3                   |         |
| Differentiation   |                     |                 |                     | 0.496   |
| Well/Mod diff.    | 43                  | 9               | 5                   |         |
| Poor diff.        | 3                   | 0               | 1                   |         |

단받았으며, 병기는 AJCC 6판을 기준으로 하였다.<sup>25</sup> 환자들의 임상병리학적 특성으로는 나이, 성별, 종양의 육안소견, 종양의 크기, 종양의 침윤 깊이(T stage), 임파선 전이 여부(N stage), 종양의 분화도 등을 조사하였다. 환자들의 생존 여부는 병록기록지, 전화탐방으로 조사하였다.



**Fig. 1.** Immunohistochemical staining of Ki-67 in ampulla of Vater cancer

- A. Ki-67 negative staining (x 400)
- B. Ki-67 moderate positive staining (x 400)
- C. Ki-67 strong positive staining (x 400)

**Table 2.** Correlation between VEGF expression and clinicopathological characteristics

| Variables         | VEGF (Negative) | VEGF (Weak) | VEGF (positive) | p-value |
|-------------------|-----------------|-------------|-----------------|---------|
| Sex               |                 |             |                 | 0.056   |
| Male              | 18              | 4           | 12              |         |
| Female            | 10              | 11          | 9               |         |
| Age (years)       |                 |             |                 | 0.981   |
| <60               | 16              | 9           | 12              |         |
| ≥60               | 12              | 6           | 9               |         |
| Morphology        |                 |             |                 | 0.095   |
| Non-ulcer         | 17              | 13          | 11              |         |
| Ulcer             | 11              | 2           | 10              |         |
| Tumor size (cm)   |                 |             |                 | 0.319   |
| <2                | 16              | 5           | 11              |         |
| ≥2                | 11              | 2           | 10              |         |
| Depth of invasion |                 |             |                 | 0.191   |
| T1/2              | 18              | 8           | 8               |         |
| T3/4              | 10              | 7           | 13              |         |
| LN metastasis     |                 |             |                 | 0.782   |
| Positive          | 9               | 5           | 9               |         |
| Negative          | 19              | 9           | 12              |         |
| Differentiation   |                 |             |                 | 0.729   |
| Well/Mod diff.    | 24              | 14          | 19              |         |
| Poor diff.        | 3               | 1           | 1               |         |

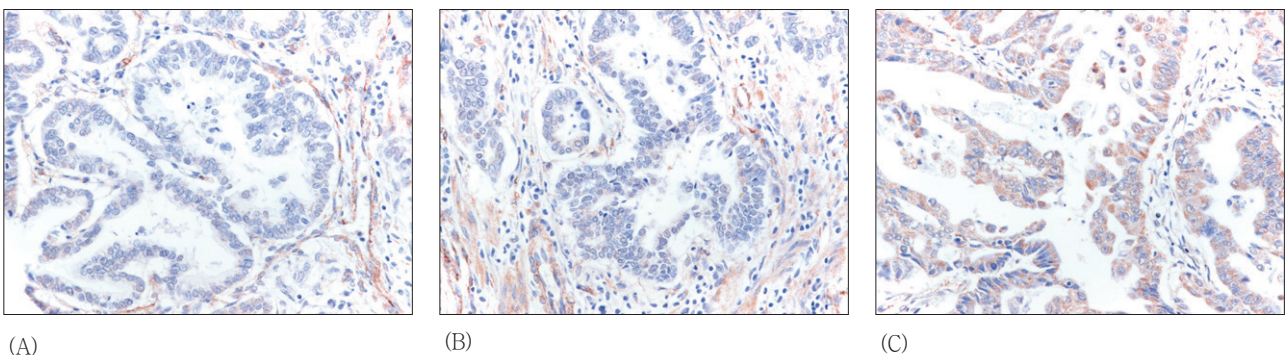
## 2. 면역조직화학염색

포르말린에 고정하여 제작된 파라핀 포매 조직을 4  $\mu$ m 두께로 잘라 면역염색용 유리 슬라이드에 부착시키고, 56°C 배양기에서 30분간 부치시킨 후 xylene으로 3분씩 3회 세척하여 파라핀을 제거하고 100%, 85%, 70%, 50% 알코올로 단계적으로 xylene을 제거한 후 증류수로 3분씩 2회 세척하였다.

차폐된 항원단백의 노출을 위해 10 mM citrate buffer (pH 6.0) 용액으로 microwave에서 15분간 가열시킨 후 증류수로 5분씩 2회 세척하고 3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>로 10분간 내인성 peroxidase를 억제시킨 후 증류수로 3분씩 3회 세척하였다. TBS (tri-buffered-saline, pH 7.6) 용액으로 5분간 세척 후, 비특이반응물질 제거를 위하여 normal goat serum을 실온에서 20분간 반응시켰다. 1차 항체 Ki-67 (Novocastra, Newcastle, UK, 1:100희석), VEGF (Novocastra, Newcastle, UK, 1:50희석)를 실온에서 1시간 반응시킨 후 TBS로 5분씩 3번 세척시킨 후 2차 항체 (Zymed, Cap-plus kit, Sanfrancisco, USA)를 실온에서 30분간 반응시켰다. TBS로 5분씩 3번 세척시키고, DAB (Diaminobensidine tetrahydrochloride, DAKO envision Detection kit)로 10분간 반응시켜 조직절편의 갈색 반응을 확인한 후 흐르는 물에 10분간 세척하였다. 대조염색을 위하여 hematoxyline에 10초간 염색 후 흐르는 물로 씻고 탈수 과정을 거쳐 xylene에서 봉입과정을 거쳐 슬라이드를 제작하였다.

## 3. 면역조직화학염색 결과의 판정

판정은 염색 후 환자의 정보 없이 한 명의 진단병리와 전문



**Fig. 2.** Immunohistochemical staining of VEGF in ampulla of Vater cancer

- A. VEGF negative staining (x 200)
- B. VEGF moderate positive staining (x 200)
- C. VEGF strong positive staining (x 200)

의가 판정하였고, 판정기준은 아래와 같다.

Strong: Strong, complete membrane staining in more than 50% of the malignant cells

Weak : Weak, complete membrane staining in more than 30% of the malignant cells and less than 50% of malignant cells

Negative: Less intense or less than 30% of cells staining

#### 4. 통계

면역조직화학염 색결과와 예후인자와의 비교는 student t-test, Fisher's exact test 및 chi-square test로 검증하였다. 유의수준은  $p < 0.05$ 를 통계학적 의미가 있는 것으로 보았다. 생존율은 SPSS 10.0 프로그램으로 Kaplan-Meier 생존분석을 시행하여 log-rank test로 비교 검증하였으며, 다변량분석은 p value 값이 0.05이하인 의미 있는 예후인자들을 대상으로 Cox regression 생존분석을 이용하였다.

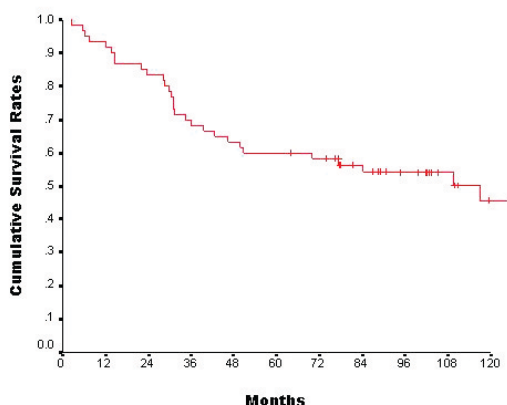


Fig. 3. Cumulative survival rate in 60 patients with ampulla of Vater carcinoma

## 결 과

### 1. Ki-67과 VEGF의 양성율

전체 64명 환자에서 Ki-67은 48명(75%)에서 음성, 10명(15.6%)에서 양성, 6명(9.4%)에서는 강양성이었으며, VEGF 수용체는 28명(43.8%)에서 음성, 15명(23.4%)에서 양성, 21명(32.8%)에서 강양성으로 나타났다(Fig. 1, 2).

### 2. Ki-67, VEGF의 양성율과 예후인자들과의 관계

전체 64명의 환자 중 남자가 34명(53.1%), 여자가 30명(46.9%)으로 남녀비는 1:0.88이었다. 대상 환자의 평균연령은  $57.2 \pm 9.3$ 세였고, 종양의 평균 크기는  $22.7 \pm 11.7$

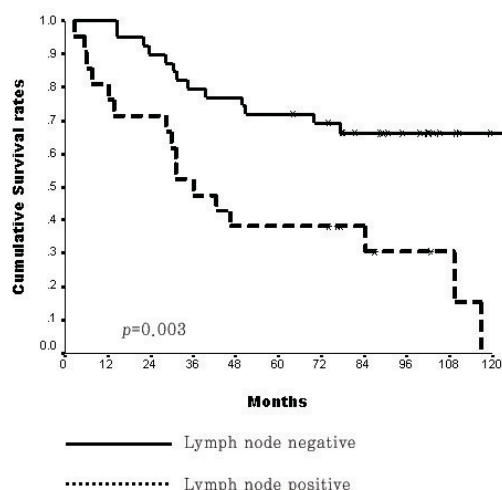


Fig. 4. Cumulative survival rates according to lymph node metastasis

mm이었다.

대상 환자 64명의 환자 중 췌십이지장절제술은 21명(32.8%), 유문보존 췌십이지장 절제술은 40명(62.5%), 경십이지장 유두부 절제술이 3명(4.7%)에서 시행되었다.

수술 후 사망은 4명(6.2%)이었으며 수술 후 사망의 원인으로 췌관의 누출, 담즙누출, 수술 후 혈전증으로 인한 심근경색, 수술 후 출혈 등으로 인한 사망이 각각 1명씩 있었다.

Ki-67과 VEGF의 발현여부와 종양의 임상병리학적 변수들의 관계를 분석하였을 때 나이, 종양의 크기, 종양의 침윤 정도, 림프절 전이 여부와 종양의 분화도와는 통계적으로 유의한 상관관계가 없었으나, 남자보다 여자에서 VEGF의 발현도가 높게 관찰되었다( $p=0.056$ ) (Table 1, 2).

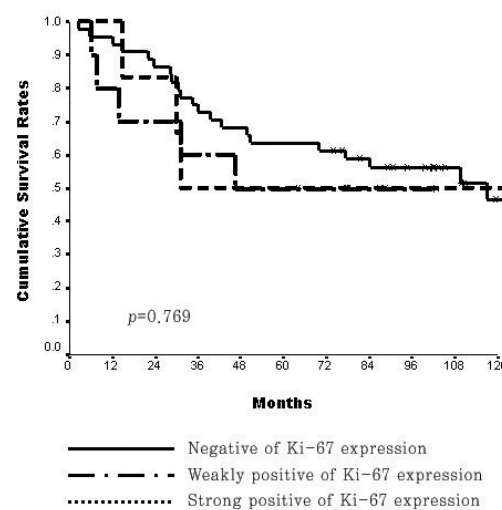


Fig. 5. Cumulative survival rates according to Ki-67 expression



### 3. 췌대부 주위암의 생존률 및 예후인자와의 관계

전체 64명 환자들의 평균 생존기간은  $102.2 \pm 9.1$  개월이었으며, 3년, 5년 생존율은 각각 68.3%, 60.0%이었다(Fig. 3).

췌대부의 암의 예후인자들과 Ki-67, VEGF 발현 여부에 따른 생존율을 비교 분석하였을 때, 림프절 전이 여부만이 환자의 생존율에 영향을 미치는 유일한 인자였다(Fig. 4).

하지만, 성별, 나이, 병변의 크기, 병변의 육안 소견, 종양의 분화도, 병변의 침윤 정도 및 Ki-67과 VEGF의 발현도와는 통계적으로 유의하지 않았다(Table 3). 하지만, Ki-67의 경우, 통계학적 의미는 없었지만 발현 정도에 따라 환자의 생존율이 낮아지는 경향은 있었다(Fig.5).

## 고 찰

췌대부 주위암은 발생 위치는 달라도 발병 당시의 증상이 유사하고 근본적인 치료방법인 수술법도 동일하여 임상적으로 유사하게 취급되는 경우가 많다. 그 중, 바터씨 췌대부암은 해부학적 위치로 인하여 다른 췌대부 주위암에 비하여 조기에 발견되고 근치적 절제가 가능한 경우가 많아 생존율이 가장 양호한 암으로 보고되고 있다.<sup>1,2</sup>

현재까지 바터씨 췌대부암의 예후에 관련된 임상병리학적 인자로는 종양의 크기, 임파선 전이 상태, 종양의 침윤 깊이, 종양의 분화도, 수술시 절제연 확보 여부 등이 중요한 예후 인자로 알려져 있다.<sup>1-8</sup> 본 연구에서는 임파선 전이 여부만이 환자의 생존율에 영향을 미치는 유일한 인자였다.

현대 분자생물학의 발전은 종양유전자, 종양억제유전자와 세포내 단백질 등의 새로운 물질들에 대한 연구를 가능하게 하였으며, 그러한 노력으로 여러 종양에서 지금까지 밝혀진 전통적인 임상병리학적 예후인자들만으로는 설명되지 못하는 부분을 보완하여 새로운 예후인자를 밝혀내는 데 기여하고 있다.<sup>9-13,16-24</sup> 그 중 Ki-67은 395 kDa 크기로 약 30,000 쌍의 염기 서열로 구성된 핵 단백질이다.<sup>26-28</sup> Ki-67의 작용 기전이 정확하게 밝혀져 있지 않지만, 세포핵 인(nucleolus)의 구조 중에서 DFC(Dense fibrillary component) 영역에 위치하며 DNA 및 RNA와 결합함으로써 세포 증식에 영향을 미치는 것으로 알려져 있다.<sup>29</sup> 특히 세포 분열 과정에서 Ki-67의 발현도가 리보솜의 단백질 생성율과 연관되어 있다는 것이 알려져, 새로운 세포의 DNA구조를 형성하는데 중심적인 역할을 하는 것으로 생각하고 있다.<sup>30</sup> Ki-67은 반감기가 비교적 짧은 세포의 증식기에 그 양이 증가하였다가, 휴지기에는 즉시 감소하는 양상을 보여 세포의 증식능을 나타내는데 적절한 표지자로써 널리 사용되고 있다.<sup>31</sup> 최근 종

**Table 3.** Univariate analysis of clinopathologic characteristics

| Variables       | 3 year (%) | 5 year (%) | p- value |
|-----------------|------------|------------|----------|
| Sex             |            |            | 0.123    |
| Male            | 80.7       | 70.9       |          |
| Female          | 55.1       | 48.3       |          |
| Age (years)     |            |            | 0.194    |
| <60             | 72.2       | 63.9       |          |
| ≥60             | 62.5       | 54.2       |          |
| Morphology      |            |            | 0.447    |
| Non-ulcer       | 73.0       | 59.5       |          |
| Ulcer           | 60.9       | 60.9       |          |
| Tumor size (cm) |            |            | 0.196    |
| <2              | 75.9       | 72.4       |          |
| ≥2              | 61.3       | 48.4       |          |
| Invasion depth  |            |            | 0.131    |
| T1/2            | 76.7       | 70.7       |          |
| T3/4            | 60.0       | 50.0       |          |
| LN metastasis   |            |            | 0.008    |
| Positive        | 47.6       | 38.1       |          |
| Negative        | 79.5       | 71.8       |          |
| Differentiation |            |            | 0.322    |
| Well/Mod diff.  | 68.5       | 59.3       |          |
| Poor diff.      | 66.6       | 66.6       |          |
| Ki-67           |            |            | 0.770    |
| Negative        | 72.7       | 63.6       |          |
| Weak            | 60.0       | 50.0       |          |
| Strong          | 50.0       | 50.0       |          |
| VEGF            |            |            | 0.169    |
| Negative        | 80.0       | 72.0       |          |
| Weak            | 57.1       | 57.1       |          |
| Strong          | 61.9       | 35.7       |          |

양의 예후와 Ki-67 유전자와의 연관성을 밝히려는 많은 연구들이 이루어지고 있지만, 바터씨 췌대부암에서 Ki-67 유전자의 진단적, 예후 인자로서의 가치에 대해서는 현재까지 상반된 보고들이 많아 그 임상적인 가치가 확립되어 있지 않은 상태이다.<sup>9-13</sup> 우리의 연구에서는 Ki-67 발현도와 기존의 임상병리학적 요인들과 연관이 없는 것으로 나왔지만 Ki-67의 발현도에 따라 환자의 생존률이 나빠지는 경향을 보여 앞으로 대규모 연구가 필요할 것으로 사료된다.

VEGF는 헤파린과 결합하는 이량체(dimer) 폴리펩타이드로서 혈관의 내피세포에만 특이적으로 활성을 나타내며, 종양의 진행 과정에 필수적인 혈관형성에 중요한 역할을 담당하는 물질이다.<sup>14,15</sup> VEGF는 혈관형성과 관련하여 내피세포의 이동과 분화, 유전자발현 조정, 내피세포의 수명 연장 등의 기능을 담당하는 것으로 알려져 있으며,<sup>32</sup> 여러 종양의 진행, 전이 과정과 관련하여 예후에 영향을 미치는 것으로 보고되고 있다.<sup>16-24</sup> 하지만 우리의 연구에서는 VEGF의 발현 정도와 생존률과는 관계가 없는 것으로 나왔지만 종양조직에서의 혈관 밀도, 혈관 지름, 혈관의 투과성에 관한 대규모 연구가 필요하며, 신생혈관 생성을 더 잘 예측할 수 있는 특수 염색이 나온다면, 아마도 다른 결과가 나올 수 있을 것으로 사료된다.

바터씨 팽대부암의 수술 후 치료방침을 정하기 위하여 바터씨 팽대부암의 예후인자를 이해하는 것이 중요하다. 이번 연구는 바터씨 팽대부암의 예후를 적은 수의 대상을 가지고, 후향적으로 평가한 제한점이 있다. 그러나 근치적 절제를 시행한 바터씨 팽대부암에서 Ki-67이 팽대부의 예후에 영향을 주는 중요한 인자가 될 수 있다는 사실을 보여주었다. 따라서 동일 병기의 암이라 할지라도 Ki-67의 발현도가 높을수록 수술 후 짧은 간격의 철저한 추적 관찰이 필요할 것이다.

## 결론

근치적 절제를 시행한 바터씨 팽대부암에서 임파선 전이 여부만이 환자의 생존율에 영향을 미치는 예후인자였다. 하지만, Ki-67의 발현도가 높은 환자들이 나쁜 예후를 보이는 경향을 보여 Ki-67이 바터씨 팽대부암에서 예후인자로서의 기능을 할 수 있다고 여겨진다. 따라서 앞으로 대규모의 연구를 통하여 바터씨 팽대부암에서 Ki-67의 역할을 정확히 규명해야 한다고 생각된다.

## 참고 문헌

1. Michelassi F, Erroi F, Dawson PJ, et al. *Experience with 647 consecutive tumors of the duodenum, ampulla, head of the pancreas, and distal common bile duct.* Ann Surg 1989;210:544-554.
2. Yeo CJ, Sohn TA, Cameron JL, Hruban RH, Lillemoe KD, Pitt HA. *Periampullary adenocarcinoma: analysis of 5-year survivors.* Ann Surg 1998;227:821-831.
3. van der Gaag NA, ten Kate FJ, Lagarde SM, Busch OR, van Gulik TM, Gouma DJ. *Prognostic significance of extracapsular lymph node involvement in patients with adenocarcinoma of the ampulla of*

- Vater.* Br J Surg 2008;95:735-743.
4. Beghelli S, Orlandini S, Moore PS, et al. *Ampulla of vater cancers: T-stage and histological subtype but not Dpc4 expression predict prognosis.* Virchows Arch 2002;441:19-24.
5. Shirai Y, Ohtani T, Hatakeyama K. *Number of lymph node metastases is significantly associated with survival in patients with radically resected carcinoma of the ampulla of Vater.* Br J Surg 1996;83:1302-1303.
6. Hong YK, Jeong J, Park JS, et al. *Prognostic factors and survival rate of ampulla of vater cancer after curative surgery.* J Korean Surg Soc 2004;66:212-215.
7. Park JS, Yoon DS, Kim KS, et al. *Factors influencing recurrence after curative resection for ampulla of Vater carcinoma.* J Surg Oncol 2007;95:286-290.
8. Bouvet M, Gamagami RA, Gilpin EA, et al. *Factors influencing survival after resection for periampullary neoplasms.* Am J Surg 2000;180:13-17.
9. Brown DC, Gatter KC. *Ki67 protein: the immaculate deception?* Histopathology 2002;40:2-11.
10. Kubota K, Kakuta Y, Kawamura S, Saito S, Seki H, Kuniyoshi T. *Usefulness of endoscopic biopsy using immunostaining of p53 and Ki-67 in tumors of the ampulla of Vater.* Pathol Int 2003;53:361-370.
11. Murakami M, Sasaki T, Kuwada Y, Yamasaki S, Kuwahara K, Chayama K. *Prognostic value of p53 and Ki-67 expression in resected or biopsy specimens of bile duct carcinoma.* Oncol Rep 2003;10:1091-1096.
12. Rijken AM, Umezawa A, van Gulik TM, et al. *Prognostic value of cell proliferation (Ki-67 antigen) and nuclear DNA content in clinically resectable, distal bile duct carcinoma.* Ann Surg Oncol 1998;5:699-705.
13. Takashima M, Ueki T, Nagai E, et al. *Carcinoma of the ampulla of Vater associated with or without adenoma: a clinicopathologic analysis of 198 cases with reference to p53 and Ki-67 immunohistochemical expressions.* Mod Pathol 2000;13:1300-1307.
14. Arii S, Mori A, Uchida S, Fujimoto K, Shimada Y, Imamura M. *Implication of vascular endothelial growth factor in the development and metastasis of human cancers.* Hum Cell 1999;12:25-30.
15. Dvorak HF, Brown LF, Detmar M, Dvorak AM. *Vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor, microvascular hyperpermeability, and angiogenesis.* Am J Pathol 1995;146:1029-1039.
16. Lee HJ, Koh YT, Lee S, et al. *Expression of vascular endothelial growth factor(VEGF) in hepatocellular carcinoma.* Kor J of HBP Surgery 2001;5:43-54.
17. Fox SB, Generali DG, Harris AL. *Breast tumour angiogenesis.* Breast Cancer Res 2007;9:216.
18. Grizzi F, Weber C, Di Ieva A. *Antiangiogenic strategies in medulloblastoma: reality or mystery.* Pediatr Res 2008;63:584-590.
19. Jain RK, di Tomaso E, Duda DG, Loeffler JS, Sorensen AG, Batchelor TT. *Angiogenesis in brain tumours.* Nat Rev Neurosci 2007;8:610-622.
20. Black PC, Dinney CP. *Bladder cancer angiogenesis and metastasis--translation from murine model to clinical trial.* Cancer Metastasis Rev 2007;26:623-634.
21. Spannuth WA, Sood AK, Coleman RL. *Angiogenesis as a strategic*

- target for ovarian cancer therapy. Nat Clin Pract Oncol* 2008;5:194-204.
22. Bednarek W. *Markers and modulators of angiogenesis in ovarian cancer. Ginekol Pol* 2007;78:754-763.
23. Lim YJ, Lee JK, Park CK, et al. *Prognostic value of VEGF in human pancreatic ductal adenocarcinoma. Korean J Intern Med* 2004;19:10-14.
24. Chen L, Tao SF, Zheng YX. *Prognostic significance of vascular endothelial growth factor expression and microvessel density in carcinoma of ampulla of Vater. Hepatogastroenterology* 2006;53:45-50.
25. Greene FL, Page DL, Fleming ID, et al. *AJCC Cancer Staging Manual, 6th ed. Springer, 2002, p145-150.*
26. Scholzen T, Gerdes J. *The Ki-67 protein: from the known and the unknown. J Cell Physiol* 2000;182:311-322.
27. Endl E, Gerdes J. *The Ki-67 protein: fascinating forms and an unknown function. Exp Cell Res* 2000;257:231-237.
28. Schlüter C, Duchrow M, Wohlenberg C, et al. *The cell proliferation-associated antigen of antibody Ki-67: a very large, ubiquitous nuclear protein with numerous repeated elements, representing a new kind of cell cycle-maintaining proteins. J Cell Biol* 1993;123:513-522.
29. MacCallum DE, Hall PA. *The location of pKi67 in the outer dense fibrillary compartment of the nucleolus points to a role in ribosome biogenesis during the cell division cycle. J Pathol* 2000;190:537-544.
30. Plaat B, Kole A, Mastik M, Hoekstra H, Molenaar W, Vaalburg W. *Protein synthesis rate measured with L-[1-11C]tyrosine positron emission tomography correlates with mitotic activity and MIB-1 antibody-detected proliferation in human soft tissue sarcomas. Eur J Nucl Med* 1999;26:328-332.
31. Allison RT, Best T. *p53, PCNA and Ki-67 expression in oral squamous cell carcinomas: the vagaries of fixation and microwave enhancement of immunocytochemistry. J Oral Pathol Med* 1998;27:434-440.
32. Dvorak HF. *Vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor: a critical cytokine in tumor angiogenesis and a potential target for diagnosis and therapy. J Clin Oncol* 2002;20:4368-4380.