

갑상선 결절의 Ki67과 p27 발현도에 대한 분석*

연세대학교 의과대학 외과학교실, 병리학교실**

박정수 · 정웅윤 · 장항석 · 이미경**

= Abstract =

Significance of Ki67 and p27 Reactivities in Various Thyroid Disorders

Cheong Soo Park, M.D., Woung Youn Chung, M.D.,
Hang Seok Chang, M.D., Mi Kyung Lee, M.D.**

Departments of Surgery and Pathology,** Yonsei University College of Medicine, Seoul, Korea

Objective : The expression of Ki67, a proliferation marker, and p27, a cyclin dependent kinases(CDKs) inhibitor, has been studied in various human neoplasms. This study was carried out to determine whether these markers are useful in distinguishing benign from malignant lesions of the thyroid or predicting biologic behavior of malignant lesions.

Material and Methods : Using immunohistochemical techniques with monoclonal antibodies to Ki67 and p27, we analyzed the expression of Ki67 and p27 in various thyroid disorders(25 follicular adenomas, 47 follicular carcinomas, 16 papillary carcinomas, 20 adenomatous goiters and 40 normal thyroid tissues). The labeling indices(LIs) were determined by counting cells expressing these markers in 1000 cells per immunostained slide.

Results : Neoplastic thyroid diseases showed higher expression of Ki67 and lower expression of p27 than non-neoplastic diseases($p < 0.05$). The expression of p27 was significantly different between follicular adenomas(LI= 55.4 ± 5.7) and follicular carcinomas(LI= 23.2 ± 10.2). There was, however, no significant correlation between the degree of Ki67 and p27 labeling indices and types of carcinoma or clinical aggressiveness of diseases.

Conclusion : The degree of Ki67 and p27 expression was useful in distinguishing between benign from malignant thyroid lesions, particularly between follicular adenoma and follicular carcinoma, but was not directly proportional to the tumor aggressiveness.

KEY WORDS : Ki67 · p27 · Thyroid disorders.

서 론

대부분의 갑상선 질환은 병리학적 진단기준으로 감별이 되지만 선종성 갑상선종, 여포상 선종, 여포상암은 그 진단 기준이 불명확하고 병리학자들간에도 차이를 보여 수술검

*본 논문은 1997년도 연세대학교 연구위원회 학술연구비 보조로 이루어졌음.

*본 논문의 요지는 1998년도 추계 외과 학술대회에서 구연발표 되었음.

교신저자 : 박정수, 120-749 서울 서대문구 신촌동 134

연세대학교 의과대학 외과학교실

전화 : (02) 361-5540 · 전송 : (02) 313-8289

E-mail : ysurg@yumc.yonsei.ac.kr

체에서 조차도 감별진단을 내리기 어려운 경우가 종종 있다. 또한 고분화 갑상선암인 유두상암과 여포상암은 대부분 예후가 좋지만 다양한 생태학적인 차이를 보임으로써 동일한 병기 및 분화도에도 불구하고 예후의 차이를 상당수 관찰할 수 있다.

Ki67은 proliferating cell nuclear protein으로 이에 대한 단클론성 항체의 발현도는 종양의 증식능을 측정할 수 있는 간편하고 신뢰성이 높은 방법으로 알려져 있으며, 최근에 활발히 연구되고 있는 cell cycle inhibitory protein의 일종인 P27은 세포의 증식을 억제하고 apoptosis와 밀접한 관련이 있어, 이미 여러 암세포에서 P27의 표현도가 종양의 악성도와 역상관성이 있는 것으로 보고된 바 있다.

이에 본 저자들은 갑상선 결절의 Ki67 과 P27 발현도가 갑상선 질환에 대한 감별진단적 가치와 고분화 갑상선 암종의 다양한 생태학적 차이를 알 수 있는 예측인자로서 유용한가를 알아보고자 본 연구를 시행하였다

대상 및 방법

1. 연구재료

1988년 1월부터 1997년 12월까지 본원에서 시행된 갑상선 수술에 중 선종성 갑상선종 20예, 여포상 선종 25예, 여포상암 47예, 유두상암 16예의 병소 및 인접 정상조직이 포함된 파라핀에 포매된 조직을 대상으로 하였다.

2. 광학현미경적 검색

10% 중성 포르말린에 고정 후 파라핀에 포매하여 보관된 블록을 연속 절편하여 hematoxylin-eosin 염색을 하여 세포밀도, 혈관형성정도, 종양내 괴사여부 등을 관찰하여 면역조직화학염색에 적합한지를 알아보았으며, 조직괴사가 심한 경우는 제외시켰다. 유두상암은 육안소견 및 현미경적 소견으로 피막의 침윤, 주위 연부조직 및 근육으로의 침윤 여부를 확인하여 intrathyroidal type과 locally advanced type을 분류 확인하였다. 여포상 암종은 암세포의 피막 및 혈관 침윤 부위의 확인 및 침윤정도를 확인하여 minimally invasive type과 widely invasive type을 분류하였으며, 또한 세포의 형태, 세포밀도, 핵 및 인의 상태, 체세포 분열 상을 고려하여 세포 이형성(cellular atypism) 부위를 확인하였다.

3. 면역조직화학염색법

파라핀에 포매된 대상 조직에 항원 Ki67와 P27에 대한 단클론 항체 및 LSAB kit를 이용해 면역조직화학염색을 실시하였다(Fig. 1, 2).

파라핀에 포매된 조직을 3um 두께로 절단한 후 탈파라핀 과 함수과정을 거쳐 3% 과산화수소수(LSAB kit)로 세포내

에 존재하는 페록시다제 활성도를 제거하였다. 조직항원이 잘 노출될 수 있도록 Pepsin용액(Bimoda Corporation, Foster, CA, USA)을 조직 위에 4분간 부치하였다. 조직항원과 항체간의 반응에 있어서 비특이적 결합을 억제하기 위하여 Tissue conditioner용액(LSAB kit)을 4분간 부치한 후, citric acid buffer(pH 6.0)에 침수시킨체로 10분간 microwave에 처리한 후 단클론 항체(Monoclonal Ki67, or Monoclonal p27)를 Tris-Hcl buffer(DAKO Corporation, Carpinteria, CA, USA)에 각각 1 : 50, 1 : 2000으로 희석하여 실온에서 약 60분간 반응시킨후 4°C에서 12시간 정도 부치한다. Link antibody(LSAB kit)를 조직위에 5분간 부치한 후 Streptavidine과 Tris/Hcl buffer(LSAB Kit)를 60 : 1로 희석하여 4분간 부치한다. 페록시다제의 역할을 증가시키기 위해 페록시다제 enhancer(Biomedica Corporation, Foster, CA, USA) 처리 후 발색제로 AEC Chromogen (3-Amino-9-ethylcarbazole)을 10분간 부치한 후 Hematoxylin으로 대조염색을 시행하였다. 염색의 전 과정에서 완충액은 10X immunoassay buffer(Biomedica Corporation Foster, CA, USA)을 사용하였다.

4. 검사판독

각 조직의 항체에 대한 발현도는 저배율에서 염색된 세포가 많은 부위를 확인한 후 고배율(x200or x400)에서 ocular 10x10-mm grid를 이용해 1000개의 세포 중 발현된 핵의 수를 측정하여 labeling index로 표현하였으며, 40예의 정상조직 및 각 질환간의 labeling index의 차이를 분석하였다. 유두상암에서 intrathyroidal type과 locally invasive type간의 차이 및 여포상암의 minimal invasive type과 widely invasive type간에 labeling index의 차이가 있는지를 분석하여 암의 진행정도와의 상관성을 분석하였으며, 특히 여포상암에서는 악성도가 높은 피막침윤 부위나 세포 이형성 부위의 labeling index가 종양내 다른 부위와 차이가 있는지 분석하였다.

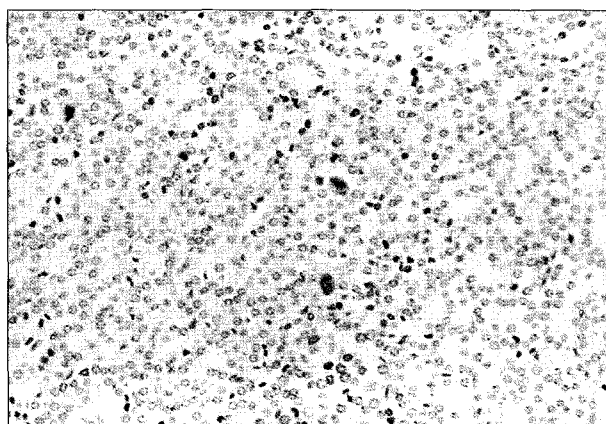


Fig. 1. Follicular carcinoma with a few nuclei staining for Ki67(X200).

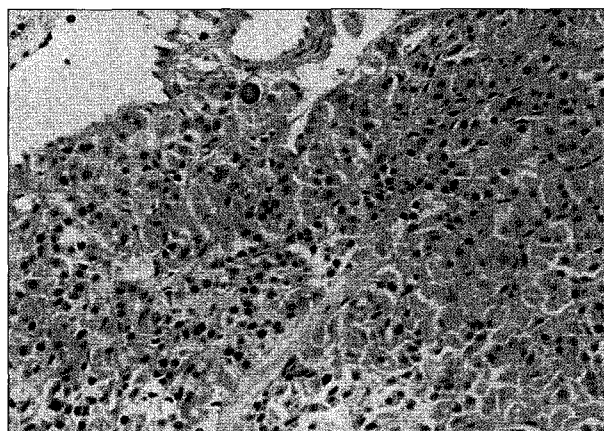


Fig. 2. Follicular adenoma with many nuclei staining for p27(X100).

5. 통계분석

SPSS program으로 Chi-square test 및 Mann-Whitney 방법으로 분석하였으며, 통계학적 유의수준은 95% 이상 ($p < 0.05$)으로 정하였다.

결 과

1. 병리조직학적 소견

유두상암 16예 중 intrathyroidal type이 8예, locally advanced type이 8예이었고, 여포상암 47예 중에서는 mi-

Table 1. Ki-67 labeling index by the histologic types of the tumor

Histologic type	LI*(mean±SD)	P-value
Normal(n=40)	1.5±0.6	
Ahedomatous hyperplasia(n=20)	1.9±1.1	NS+
Follicular adenoma(n=25)	4.9±2.3	<.05++
Follicular carcinoma(n=47)	6.2±3.1	NS+
Papillary carcinoma(n=16)	5.7±1.4	NS+

*Labeling Index, + : Not Significant, ++ : Normal or adenomatous hyperplasia vs follicular adenoma or follicular carcinoma or papillary carcinoma

Table 2. p27 labeling index by the histologic types of the tumor

Histologic type	LI*(mean±SD)	P-value
Normal(n=40)	86.1± 9.5	
Ahedomatous hyperplasia(n=20)	79.2± 5.4	NS+
Follicular adenoma(n=25)	55.4± 5.7	<.05++
Follicular carcinoma(n=47)	23.2±10.2	<.05++
Papillary carcinoma(n=16)	19.5± 3.4	NS+

* : Labeling Index, + : Not Significant
++ : Normal or adenomatous hyperplasia vs follicular adenoma or follicular carcinoma or papillary carcinoma
+++ : follicular adenoma vs follicular carcinoma

Table 3. labeling index by the types of cancer

Type of cancer	Ki-67		p27	
	LI*(mean±SD)	P-value	LI*(mean±SD)	P-value
Follicular carcinoma				
Minimally invasive type(n=43)	6.3±3.2		22.9±10.4	
Widely invasive type(n=4)	5.6±0.9	NS+	26.4± 7.4	NS+
Papillary carcinoma				
Intrathyroidal type(n=8)	5.3±1.4		18.2± 2.9	
Locally advanced type(n=8)	6.1±1.1	NS+	20.8± 3.7	NS+

* : Labeling Index, + : Not Significant

Table 4. labeling index of follicular cancer by the location of tumor

Location	Ki-67		p27	
	LI*(mean±SD)	P-value	LI*(mean±SD)	P-value
Capsular invasion(n=47)	6.5±4.2		19.3±52.7	
Cellular atypism(n=16)	7.1±2.5	NS+	21.8± 8.1	NS+
Others(n=47)	5.9±2.9	NS+	27.4± 9.8	NS+

* : Labeling Index, + : Not Significant

nimally invasive type이 43예, widely invasive type이 4예에서 있었으며 47예 중 16예에서 세포 이형성 부위를 확인할 수 있었다.

2. 질환별 Ki67 발현도

Ki67에 대한 labeling index는 정상조직 혹은 선종성 갑상선종과 신생물인 여포상 선종, 여포상 암종, 유두상 암종간의 통계적 유의한 차이가 있었지만($p < 0.05$), 여포상 선종, 여포상 암종 및 유두상 암종간의 통계적 차이는 없었다(table 1).

3. 질환별 P27의 발현도

P27에 대한 labeling index는 정상조직 혹은 선종성 갑상선종이 여포상 선종, 여포상암, 유두상암과 통계적 유의한 차이가 있었고($p < 0.05$), 또한, 여포상 선종과 여포상암간에도 통계적 유의한 차이가 있었지만($p < 0.05$), 여포상암과 유두상암간에는 통계적 차이는 없었다(Table 2).

4. 암의 진행정도에 따른 Ki67 과 P27의 발현도 비교

여포상암 중 minimally invasive type(n=43)과 widely invasive type(n=4)간, 유두상암 중 intrathyroidal type(n=8)과 locally advanced type(n=8)간의 Ki67과 P27의 labeling index는 모두 widely invasive type과 locally advanced type에서 높게 나왔지만 통계적 유의한 차이는 없었다(Table 3).

5. 여포상 암종내 부위별 Ki67 과 P27의 발현도 비교

종양내 다른 부위에 비해 피막침윤 부위 및 세포 이형성 부위의 Ki67의 labeling index는 높게, p27의 labeling index는 낮게 나왔지만 통계학적 의의는 없었다(Table 4).

고 찰

최근, 분자생물학 및 면역조직화학법의 발달로 p53, bcl-2, telomerase 등과 같이 암 세포의 성장과 증식을 촉진 혹은 억제시키거나 암 세포의 apoptosis와 연관된 종양 표식 인자에 대한 연구¹⁻⁴⁾, 암세포의 전이에 관여하는 nm23, Ca-hherin, Integrin 등에 대한 연구⁵⁻⁸⁾, 혹은 암세포의 성장 및 전이과정에 모두 연관있는 VEGF, factor VIII, CD34 등을 이용한 종양의 맥관형성능에 대한 연구들⁹⁻¹¹⁾이 종양의 악성도를 예측할 수 있는 새로운 위험인자를 찾기 위한 목적으로 다른 암종은 물론 갑상선암에서도 이미 이루어진 바 있으며 이에 대한 노력이 계속되고 있다.

이미 여러 연구에서 밝혀낸 바와 같이 종양의 악성도는 세포의 증식능과 밀접한 상관관계가 있으며, 본 연구에 사용된 Ki67과 p27은 암세포의 증식능과 관련된 종양 표식인자로서 Ki67은 proliferating cell nuclear protein으로서 이에 대한 단클론성 항체는 세포주기의 G1, G2, S, M phase에서 표현되는 핵단백질과 반응하여 증식기에 있는 모든 세포에 표현되므로 Ki67에 대한 면역조직화학염색은 종양의 증식능을 측정할 수 있는 가장 간편하고 신뢰성이 높은 방법으로 알려져 있다¹²⁾¹³⁾. 이미 악성 림프종¹⁴⁾, 유방암¹⁵⁾, 폐암¹⁶⁾, 뇌암¹⁷⁾, 연골육종¹⁸⁾ 등 여러 암종에서 Ki67에 대한 단클론성 항체를 이용해 종양의 증식능을 측정하여 종양의 증식능과 악성도와의 연관성이 규명된 바 있으며, 갑상선 질환에 대한 연구도 드물지만 일부에서 이루어졌다.

최근에 활발히 연구되고 있는 세포주기 억제단백질(cell cycle inhibitory protein), 즉, p16, p21과 함께 세포주기의 G1-기에서 S-기로 전이(transition)되는 과정을 조절하는 cyclin-dependent kinase inhibitor의 일종인 p27은 세포의 증식을 억제하고 apoptosis와 밀접한 관련이 있어 결핍시 세포의 증식이 무조절적으로 발생하는 것으로 보고되고 있다¹⁹⁾²⁰⁾. 이미 유방암²¹⁾, 대장암²²⁾ 등 여러 암세포에서 p27에 대한 단클론성 항체를 이용한 연구에서 측정된 발현도가 낮은 경우 높은 악성도를 보임으로써 예후예측인자로서의 가능성이 보고되었다. 1992년 Toyoda 등²³⁾은 갑상선 조직에서 표현도를 측정하여 그레이브씨병이나 양성 종양인 여포상 선종에서는 발현도가 정상조직보다 높게 나타났으나 유두상암 조직에서는 정상조직보다 적게 측정되어 악성 조직에서의 p27 결핍을 보고한 바 있으며, 1996년 Oian 등²⁴⁾과 1997년 Llord 등²⁵⁾의 연구에서는 정상 내분비 조직 및 비내분비 조직의 p27 발현도가 내분비 종양보다 통계적으로 유의하게 높아 병리적 진단이 어려운 내분비 질환에 대한 진단적 가치가 있는 것으로 보고하였다.

갑상선암의 대부분을 차지하는 유두상암과 여포상암은

대부분 종양의 성장속도가 느리고 예후가 매우 좋은 암으로 알려져 있으나 다른 암종과 마찬가지로 생태학적인 차이가 존재해 일부 암에서는 재발 및 원격전이가 발생해 불량한 예후를 보이는 경우가 상당수 있으며, 기존의 위험인자로는 예측하지 못하는 경우가 많다. 또한, 유두상암은 비교적 병리학적으로 진단이 정확히 이루어지고 있어, 세침흡인 세포검사 및 수술중 동결절편검사에서도 진단의 정확도가 매우 높아 치료결정시 큰 문제가 없으나 여포상암은 병리학적으로 진단이 확실하지 않아 세침흡인 세포검사 및 동결절편검사는 물론 수술검체에서조차도 선종양 갑상선종 및 양성종양과의 감별이 어려운 경우가 종종 있어 치료시 문제점이 있다.

따라서 본 연구자들은 이미 다른 암종에 대한 Ki67 혹은 p27을 이용한 기존의 연구결과에서 이 같은 악성도와의 연관성이 밝혀진 바 있으므로 갑상선암에서도 악성도를 예측할 수 있는 새로운 위험인자로서의 가능성과 감별진단적 유용성을 제시할 수 있으리라고 생각하였으며, 본 연구 결과에서도 그 가능성을 제시하였다. 즉, 비록 각 질환간의 확연한 차이는 없었지만 증식성 질환인 선종성 갑상선종보다는 신형성성 질환(neoplastic disease)들이, 양성 종양보다는 악성종양이 Ki67의 발현도는 높게, p27의 발현도는 낮게 나타났다. 또한, 통계학적으로도 Ki67과 p27의 발현도가 정상조직 혹은 선종성 갑상선종과 신생물인 여포상 선종, 여포상 암종, 유두상암중간의 유의한 차이를 보였으며($p < 0.05$), 특히, p27의 발현도는 여포상 선종과 여포상암간에도 통계적 유의한 차이를 보였고, 비록 Ki67의 발현도는 통계학적 차이가 없었지만 여포상암이 여포상 선종보다 높아 선종성 갑상선종, 여포상 선종, 여포상암 간의 감별진단적 가치를 시사하였다. 그러나 여포상암과 유두상암간에는 Ki67과 p27의 발현도의 차이는 적었으며 Ki67 발현도가 각각 6.2 ± 3.1 , 5.7 ± 1.4 로 두 암종 모두 증식능이 낮아 성장속도가 느린 암이라는 것을 알 수 있었다.

종양의 악성도와의 연관성은 유두상, 여포상암의 진행 정도에 따른 발현도의 차이를 알아보았으며, 특히 여포상암에서는 악성도가 상대적으로 높은 종양내 피막침윤 부위 및 세포 이행성 부위의 발현도가 다른 부위와 차이가 있는지를 알아보았는데, 비록 통계학적 차이는 확인할 수 없었지만 여포상암에서는 minimally invasive type보다는 widely invasive type에서, 유두상암에서는 intrathyroidal type보다는 locally advanced type에서 Ki67의 발현도는 높게, p27의 발현도는 낮게 나타났으며, 여포상암의 종양내 피막침윤 부위 및 세포 이행성 부위의 발현도가 다른 부위보다 Ki67의 발현도는 높게, p27의 발현도는 낮게 나타났으므로 악성도와의 연관성 및 위험인자로서의 가능성을 확인할 수 있었다.

본 연구결과에서 이처럼 통계학적 유의한 차이를 밝혀내

지 못한 이유는 우선, 연구 대상에 적었으며, 악성도와의 연관성을 분석하기 위한 대조군의 설정에 문제가 있었기 때문으로 생각된다. 여포상암의 widely invasive type이 단지 4예이었으며, 유두상암의 locally advanced type도 좀 더 악성도가 높은 경우, 즉, 원격전이 있었는지, 기관 및 식도 등의 광범위한 침습이 확인된 예를 포함시켰으면 좀 더 극명한 차이를 확인할 수 있었으리라고 생각된다.

갑상선암에서의 Ki67과 p27의 발현도의 의미는 1998년 Erickson 등²⁰⁾의 연구결과에서도 보고된 바 있다. Ki67과 p27의 발현도가 여포상암 과 여포상 선종간에 통계학적 차이가 있었고, 원격전이가 있었던 여포상암이 없었던 여포상암보다 Ki67의 발현도가 월등히 높게 나타났으며, 특히 미분화 갑상선암의 Ki67 발현도가 다른 암종보다 3배 이상 높게 나타나 여포상 선종, 여포상암 간의 감별진단적 가치 및 악성도를 예측할 수 있는 새로운 위험인자로서의 가능성을 확인할 수 있었다고 보고하였다.

본 연구결과에서 p27의 발현도가 Ki67의 발현도 보다 질환간의 차이, 특히, 여포상 선종과 여포상암간의 차이를 더욱 분명하게 나타냈기 때문에 진단적 가치 및 새로운 위험인자로서의 가능성이 좀 더 크다고 생각할 수 있는데, Erickson 등²⁰⁾의 연구에서도 비슷한 견해를 보이고 있다. 또한 1997년 Catzavelos 등²¹⁾의 유방암에 대한 p27 발현도 연구에서 발현도의 정도에 따라 prognostic cut-off value를 정할 정도로 임상적 가치가 높다고 주장한 바 있다.

따라서, 연구대상 예를 확대시키고 적절한 대조군을 설정하여 Ki67과 p27의 발현도의 진단적, 예후예측인자로서의 가치를 검증하게 되면, 특히, p27은 임상적인 적용도 충분히 가능할 것으로 생각된다. 즉, 여포상 종양의 크기가 커서 전체 피막에 대한 현미경적 검색이 어렵거나, 조직학적으로 감별진단이 어려운 경우에 p27에 대한 면역조직화학염색을 시행함으로써 여포상암과 여포상선종, 더 나아가 여포상암의 minimally invasive type과 widely invasive type의 감별에 도움을 줄 수 있으며, 이 같은 감별진단은 기술적으로 수술전 세침흡인 세포검사로도 가능하기 때문에 여포상 종양의 치료에 큰 도움이 될 수 있을 것으로 생각된다. 또한, 재발 및 원격전이의 악성도를 예측함으로써 악성종양에 대한 효율적인 치료를 통해 갑상선암의 치료율을 충분히 높힐 수 있으리라고 사료된다.

결 론

본 저자들은 갑상선 결절의 Ki67과 P27 발현도가 갑상선 질환에 대한 감별진단적 가치와 고분화 갑상선 암종의 다양한 생태학적 차이를 알 수 있는 예측인자로서 유용한가를 알아보고자 병소 및 인접 정상조직이 포함된 파라핀에 포매

된 선종성 갑상선종, 여포상 선종, 여포상암, 유두상암의 조직을 대상으로 면역조직화학염색을 시행한 결과, Ki67 발현도의 진단적 가치는 적었으나 P27 발현도는 갑상선 질환의 감별진단에 유용할 것으로 생각되었으며, 고분화 갑상선암의 생태학적 차이를 알 수 있는 예측인자로서의 유용도는 앞으로 확대된 연구를 통해 입증할 수 있으리라고 사료되었다.

References

- 1) Pollina L, Pacini F, Fontanini G, Vignati S, Bevilacqua G, Basolo F : *Bcl-2 and p53 protein expression in thyroid carcinoma : Lack of correlation with clinico-pathological parameters and survival.* *Br J Cancer.* 1996 ; 73 : 139-143
- 2) Goldenberg JD, Portugal LG, Wenig BL, et al : *Well-differentiated thyroid carcinomas : p53 mutation status and microvessel density.* *Head & Neck March.* 1998 : 152-158
- 3) Brousset P, Chaouche N, Leprat F, et al : *Telomerase activity in human thyroid carcinoma originating from the follicular cells.* *J Clin Endocrinol Metab.* 1997 ; 82 : 4214-4216
- 4) Umbricht CB, Gaji M, Westra WH, Udelsman R, Zeiger MA, Sukumar S : *Telomerase activity : A marker to distinguish follicular thyroid adenoma from carcinoma.* *Cancer Reserch.* 1997 ; 57 : 2144-2147
- 5) Xerri L, Grob JJ, Battyani Z, et al : *nm23 expression in metastasis of malignant melanoma is a predictive prognostic parameter correlated with survival.* *Br J Cancer.* 1994 ; 70 : 1224-1228
- 6) Ensinger CH, Obrist P, Bacher-Stier C, Mikuz G, Moncayo R, Riccabona G : *β1-Integrin expression in papillary thyroid carcinoma.* *Anticancer Reserch.* 1998 ; 18 : 33-40
- 7) Graff JR, Greenberg VE, Herman JG, et al : *Distinct pattern of e-Cadherin CpG Island Methylation in papillary, follicular, Hurthle cell and poorly differentiated human thyroid carcinoma.* *Cancer reserch.* 1998 ; 15 : 2063-2066
- 8) Walgenbach S, Sternheim E, Bittinger F, Gorges R, Andreas J, Junginger : *Prognostic significance of e-cadherin in papillary thyroid carcinoma.* *Chirurg.* 1998 ; 69 : 186-190
- 9) Fontanini G, Vignati S, Pacini F, Pollina L, Basolo F : *Microvessel Count : An indicator of poor outcome in medullary thyroid carcinoma but not in other types of thyroid carcinoma.* *Mod Pathol.* 1996 ; 9 : 636-641
- 10) Segal K, Shpitzer T, Feinmesser M, Stern, Y, Feinmesser R : *Andiogenesis in follicular tumors of the thyroid.* *J Surg Oncol.* 1996 ; 63 : 95-98
- 11) Ryu KS, Soh EY, Yim H, Kim MW : *Implications of angiogenesis and expression of VEGF in follicular thyroid tumor.* *Korean J Head & Neck Oncol.* 1998 ; 14(1) : 70-75
- 12) Carr K, Heffess C, Jin L, Lloyd RV : *Immunohistochemical analysis of thyroid carcinoma utilizing antibodies to p53 and Ki-67.* *Appl Immunohistochem.* 1993 ; 1 : 201-207
- 13) Pelosi G, Zamburi G : *Proliferation markers and their uses*

- in the study of endocrine tumors. *Endocr Pathol.* 1996 ; 7 : 103-119
- 14) Hall PA, Richard MA, Gregory WM, et al : *The prognostic value of Ki67 immunostaining in non-hodgkins lymphoma.* *J Pathol.* 1988 : 154 : 223-235
 - 15) Gerdes J, Lelle RJ, Rickartz H, et al : *Growth fractions in breast cancers in situ with monoclonal antibody Ki67.* *J Clin Pathol.* 1986 : 39 : 977-980
 - 16) Soomro IN, Whimster WF : *Growth fraction in lung tumors determined by Ki67 immunostaining and comparison with Ag-NOR scores.* *J Pathol.* 1990 : 162 : 217-222
 - 17) Zuber P, Hamou MF, Detribolet N : *Identification of proliferating cells in human glioma using the monoclonal antibody Ki-67.* *Neurosurgery.* 1988 : 22 : 364-368
 - 18) Nawa G, Ueda T, Mori S : *Prognostic significance of Ki67 (MIB1) proliferation index and p53 over expression in chondrosarcoma.* *Int J Cancer.* 1996 : 69 : 86-91
 - 19) Sherr CJ, Roberts JM : *Inhibitors of mammalian G1 cyclin dependent kinases.* *Genes Dev.* 1995 ; 9 : 1149-1163
 - 20) Reed SI, Bailly E, Dulic V, Hengst L, Resnitzky D, Slingerland S : *G1 control in mammalian cells.* *J Cell Sci.* 1994 : 19 : 68-73
 - 21) Catzavelos C, Bhattachara N, Ung YC, Wilson JA, Roncari L, Sandhu D, et al : *Decreased levels of the cell-cycle inhibitor p27^{kip} protein : Prognostic implications in primary breast cancer.* *Nat Med.* 1997 ; 3 : 227-230
 - 22) Loda M, Cukor B, Tam SW, et al : *Increased proteasome-dependent degradation of the cyclin dependent kinase inhibitor p27 in aggressive colorectal carcinomas.* *Nat Med.* 1997 ; 3 : 231-234
 - 23) Toyoda N, Nishikawa M, Mori Y : *Identification of a 27-kilodalton protein with the properties of type I iodothyronine 5'-deiodinase in human thyroid gland.* *J Clin Endocrinol Metabol.* 1992 : 74 : 533-538
 - 24) Quin X, Jin L, Grande JP, Lloyd RV : *Transforming growth factor- β and p27 expression in pituitary cells.* *Endocrinology.* 1996 ; 137 : 3051-3060
 - 25) Lloyd RV, Jin L, Quin X, Kulig E : *Aberrant p27^{kip} expression in endocrine and other tumors.* *Am J Pathol.* 1997 : 150 : 401-307
 - 26) Erickson LA, Jin L, Wollen PC, et al : *Expression of p27^{kip1} and Ki-67 in benign and malignant thyroid tumors.* *Mod Pathol.* 1998 ; 11 : 169-174