

병기 T1, 분화도 3 방광암에 있어서 Cyclooxygenase-2와 p53의 예후 판정의 가치

Prognostic Value of Cyclooxygenase-2 and p53 Expression in Stage T1 Grade III Bladder Cancer

Sung Joon Hong¹, Joong Shik Lee², Byung Ha Chung¹, Soo Mee Kwon¹, Sun Il Kim³

From the ¹Department of Urology and Brain Korea 21 Project for Medical Sciences, Yonsei University College of Medicine, Seoul, ²Department of Urology, Sunkyunkwan University College of Medicine, Seoul, ³Department of Urology, Hanyang University College of Medicine, Seoul, Korea

Purpose: The prognostic value of p53 remains controversial in stage T1, grade III (T1GIII) transitional cell carcinomas (TCC) of the bladder. Recent studies have reported increased expression of cyclooxygenase-2 (COX-2) in bladder cancer. The prognostic values of p53 and COX-2 were compared in T1GIII TCC of the bladder.

Materials and Methods: Among 57 consecutive patients, diagnosed with T1GIII TCC of the bladder by transurethral resection (TURB), 37 were eligible for this study. Exclusion criteria included; the first TURB performed elsewhere, no or inadequate (less than 6 weeks) bacillus Calmette-Guerin treatment and postoperative follow-up of less than 1 year. The expressions of p53 and COX-2 were evaluated by immunohistochemical staining of TURB tissues. Possible correlations of the p53 and COX-2 expressions with the clinicopathological features, such as age, shape and multiplicity of tumor, recurrence and progression, were examined.

Results: During a mean follow-up of 27 months, the disease recurred in 43.2% and progressed in 16.2%. Of the 37 specimens, 31 (83.8%) and 16 (43.2%) stained positive for COX-2 and p53 expressions, respectively. There were no significant differences in age, shape and multiplicity of the tumors, recurrence-free survival and progression-free survival between the p53 positive and negative groups. However, the recurrence-free and progression-free survivals were significantly lower in the COX-2 positive than in the COX-2 negative group ($p=0.049$ and $p=0.027$, respectively). When combined, p53 and COX-2 more accurately predicted recurrence than COX-2 alone ($p=0.036$), but not the progression ($p=0.776$).

Conclusions: In the pathologically homogeneous group of T1GIII TCC of the bladder, COX-2 was superior to p53 in predicting the prognosis. (**Korean J Urol 2005;46:785-791**)

Key Words: Bladder cancer, Cyclooxygenase 2, p53 genes, Recurrence, Disease progression

대한비뇨기과학회지
제 46 권 제 8 호 2005

¹연세대학교 의과대학
비뇨기과학교실 및 BK21
의과학사업단, ²성균관대학교
의과대학 비뇨기과학교실,
³한양대학교 의과대학 비뇨기과학교실

홍성준¹ · 이중식² · 정병하¹
권수미¹ · 김선일³

접수일자 : 2004년 12월 27일
채택일자 : 2005년 7월 5일

교신저자: 김선일
한양대학교병원 비뇨기과
서울시 성동구 행당동 17
☎ 133-792
TEL: 02-2290-8595
FAX: 02-2299-2186
E-mail: sikimuro@
hanyang.ac.kr

서 론

경요도절제술은 표재성방광암의 표준적 치료법이다. 그러나 고유층을 침범한 분화도 3의 소위 T1GIII 방광이행상

피암은 근침윤성암으로의 진행률이 높아 보고자에 따라서는 50%에 달하기 때문에 근치적 방광적출술도 유용한 치료 방법 중 하나로 평가된다.¹ 따라서 T1GIII 방광이행상피암의 예후를 예측하거나 치료방법을 결정할 때 종양의 개수, 모양, 크기, 상피내암의 존재여부, 재발여부, 침윤된 고유층

의 깊이 등의 다양한 임상적 예측인자들이 고려 대상이 된다. 또한 p53, p21, pRb, Ki-67 등도 예후에 대한 보충적 정보를 제공할 생물학적 표식자로 주목받고 있다.² 그러나 T1GIII 방광이행상피암만을 대상으로 할 경우 이러한 표식자들의 역할에 대한 분석이 p53 외에는 많지 않다. 최근까지의 보고에 의하면 T1GIII 방광이행상피암에 있어서 p53의 예후 판정의 가치는 매우 실망스러운 수준이다.³⁻⁶

최근 cyclooxygenase-2 (COX-2)는 다양한 암의 발생에 관여하는 중요한 효소로 주목받고 있는데 주로 세포의 증식, 혈관신생, 면역감시, 세포고사에 관여하는 것으로 알려져 있다.⁷⁻¹⁰ 최근 여러 연구자들에 의해 사람 방광암조직에 COX-2가 존재함이 밝혀졌으며 방광암의 발생과 성장에 COX-2가 관여할 가능성이 제시되었다.¹¹⁻¹⁵ 또한 T1GIII 방광이행상피암에서 COX-2의 발현이 암의 재발과 진행이라는 측면에서 예후 판정의 가치를 갖는다는 사실이 증명된 바 있다.¹⁶

본 연구에서는 T1GIII 방광이행상피암에 p53과 COX-2 발현을 비교하였으며 양자가 동시에 발현된 경우 예후의 예측에 상승효과가 있는지 알아보려고 하였다.

대상 및 방법

1. 대상 환자

1989년 7월부터 1997년 1월까지 방광이행상피암으로 진단된 787명의 환자 중 485명 (61.6%)이 표제성암이었으며 이 중 57명 (11.8%)이 TNM 병기체계와 WHO 분화도 체계에 따라 T1GIII 이행상피암으로 진단되었다. 이 중 타 기관에서 첫 종양절제를 받았거나, 방광 내 bacillus Calmette-Guerin (BCG) 요법을 받지 않았거나, 최초 경요도 절제 후 추적기간이 1년 미만인 환자를 제외한 37명을 대상으로 하였다. 모든 환자들은 종양의 완전 절제 후 6주간의 방광 내 BCG 요법을 시행 받았다. 그 후 첫 2년간은 3개월 간격, 그 다음 2년간은 6개월 간격으로, 그 후로는 연 1회 방광경과 방광세척세포검사를 실시하였다. 추적 중 방광경에서 종양이 발견되거나 세포검사 양성이어서 시행한 방광의 무작위생검에서 조직학적으로 악성이 증명된 경우 재발로 정의하였다. 암의 진행은 재발암의 병리학적 병기가 경요도절제나 근치적 방광적출술 후 T2 이상인 경우로 정의하였다.

2. 면역조직화학법

면역조직화학염색은 Vectastain ABC Elite kit (Vector Laboratories Inc., Burlingame, USA)를 이용하였으며 환자들의 최초 경요도절제 시의 방광암 조직만을 재료로 하였다. 파라핀 포매 조직을 4µm 두께의 박편으로 자르고 슬라이드

에 고정하였다. 조직을 xylene으로 탈파라핀화하고 재수화시킨 다음 내인성 과산화효소 활성도를 제거하기 위해 슬라이드를 0.3% 과산화수소에 30분간 담근 후 인산염완충식염수로 세척하였다. 비특이적 결합을 차단하기 위해 슬라이드를 5% normal goat serum에 20분간 배양한 다음, 일차항체로 anti-COX-2 항체 (1:100, Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, USA) 또는 anti-p53 항체 (1:100, clone D07, DAKO, Carpinteria, USA)를 처리한 다음 충분한 습도를 유지한 채 실온에서 2시간 동안 배양하였다. 슬라이드를 인산염완충식염수로 3회 세척한 후 바이오틴화 2차항체에 30분간 실온에서 배양한 다음 인산염완충식염수로 3회 세척한 후 avidin-biotin horseradish peroxidase reagent에 30분간 배양하였다. 발색제로는 3,3'-diaminobenzidine tetrahydrochloride를 사용하였으며 대조염색은 헤마톡실린으로 하였다. 음성대조군은 일차항체 대신 인산염완충식염수를 사용하였다.

슬라이드의 검경은 환자의 임상적 정보를 모르는 상태에서 실시하였다. 환자당 5개의 절편을 무작위로 고른 다음, 슬라이드당 무작위로 5부위를 고배율로 검경하여 최소 1,000개의 세포를 계수하였다. 암세포의 COX-2에 대한 염색강도는 0, 1, 2의 3등급으로 구분하였으며 혈관내피세포나 평활근세포의 염색강도를 내부대조로 삼았을 때 0을 음성, 1을 내부대조와 유사한 강도, 2를 내부대조보다 강한 강도로 정의하였다. 1 또는 2등급 세포의 백분율이 ≥5%인 경우 COX-2 양성으로 정의하였다. p53의 경우 COX-2와 같은 절편으로 슬라이드 당 최소 1,000개의 핵을 계수하였으며 이때 핵이 염색된 경우만 p53 양성으로 간주하였다. 핵이 양성으로 염색된 세포의 백분율이 ≥10%인 경우 p53 양성으로 정의하였다.

3. 통계

COX-2와 p53의 발현과 나이, 종양의 모양(유두상 또는 비유두상), 다발성, 재발 또는 진행까지의 기간 등의 예후인자간의 관계는 Student's t-test 또는 chi-square test로 분석하였다. 종양의 모양, 다발성, COX-2 발현, p53 발현에 따른 무재발 및 무진행 생존율은 Kaplan-Meier 방법으로 계산하였고 log rank test로 비교하였다. 또한, COX-2와 p53의 결과를 결합하여 Kaplan-Meier 분석을 시행하였다. 모든 분석에 대해서 p<0.05일 경우 의미 있는 차이로 인정하였다.

결 과

Fig. 1은 COX-2와 p53에 대한 면역염색에 양성을 보이는 T1GIII 방광이행상피암의 전형적 절편의 고배율 사진이다. p53은 암세포의 핵에 비교적 균질의 염색패턴을 보인 반면,

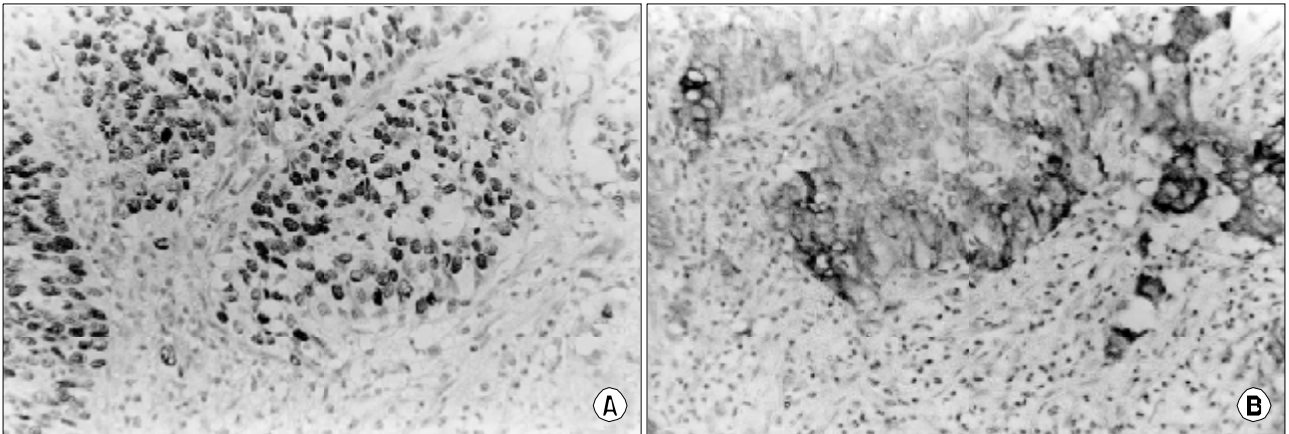


Fig. 1. Immunohistochemical staining for p53 and cyclooxygenase-2 (COX-2) in a T1GIII transitional cell carcinoma (TCC) of the bladder. Nuclear staining for p53 is homogeneous in cancer cells (A). In the same section as for p53, cytoplasmic and perinuclear staining for COX-2 is confined to a few cancer cells (B, x250).

Table 1. Comparison of age, shape and multiplicity of tumors, and mean time to recurrence and progression, according to COX-2 and p53 expressions in 37 patients with a stage T1, grade 3 transitional cell carcinoma of the bladder

| Characteristics | Expression of COX-2 | | Expression of p53 | |
|-----------------------------------|---------------------|-------------|-------------------|-------------|
| | Negative | Positive | Negative | Positive |
| Age (years) | 61.6±10.8 | 63.7±11.9 | 61.7±15.4 | 62.7±9.7 |
| Total | 21 | 16 | 6 | 31 |
| Shape of tumor* | 20 | 16 | 8 | 28 |
| Papillary | 12 | 10 | 5 | 17 |
| Non-papillary | 8 | 6 | 3 | 11 |
| Multiplicity† | 19 | 16 | 7 | 28 |
| 1 | 8 | 6 | 2 | 12 |
| ≥2 | 11 | 10 | 5 | 16 |
| Recurrence | 6 | 10 | 2 | 14 |
| Progression | 1 | 5 | 1 | 5 |
| Mean time to recurrence (months) | 7.8 (3-23) | 10.3 (3-39) | 21.0 (3-39) | 7.7 (3-25) |
| Mean time to progression (months) | 3 | 19.4 (7-39) | 39 | 12.2 (3-28) |

*: shape, †: numbers of tumors were unknown in 1 and 2 patients, respectively. COX-2: cyclooxygenase-2

COX-2는 세포질과 핵 주위에 주로 비균질의 염색패턴을 보였다. 평균 27개월 (12-67)의 추적기간 동안 16명 (43.2%)에서 방광암이 재발하였으며 6명 (16.2%)에서 근침윤암으로 진행하였다 (Table 1). 37례 중 31례 (83.8%)가 p53에 양성

을 보인 반면 16례 (43.2%)가 COX-2에 양성을 나타냈다. COX-2나 p53의 발현에 따라 나이, 종양의 모양, 다발성 여부, 재발이나 진행까지의 기간 등은 유의한 차이를 나타내지 않았다. 또한 COX-2와 p53의 발현은 서로 유의한 상관관계를 보이지 않았다 ($p=0.979$). Kaplan-Meier 방법으로 종양의 모양, 다발성 여부 등에 따라 무재발 및 무진행 생존율에 차이가 있는지 분석한 결과 유의한 차이가 없었으며 p53의 발현 여부도 무재발 및 무진행 생존율과 연관성이 없었다 (Fig. 2). 반면, 무재발 및 무진행 생존율은 COX-2 양성인 그룹이 음성인 그룹에 비해 유의하게 낮았다 ($p=0.0493$, $p=0.0272$, Fig. 3). p53과 COX-2 모두 양성일 경우 그렇지 않은 경우에 비해 유의하게 낮은 무재발 생존율을 보였으나 ($p=0.0361$), 무진행 생존율에 있어서는 그렇지 않았다 ($p=0.776$, Fig. 4). p53과 COX-2 모두 음성일 경우에는 그렇지 않은 경우에 비해 암의 재발과 진행에 있어서 더 좋은 예후를 예견하지는 못했다 ($p=0.2025$, $p=0.2826$, Fig. 5).

고 찰

표재성방광암에서 p53, Ki-67, p21 등과 같은 생물학적 지표의 예후 판정의 가치에 대한 연구가 많이 이루어져왔다. 이러한 지표들 중에서 방광암의 재발이나 진행과 연관되어 p53이 가장 중요한 예후인자라는 사실은 이미 많은 연구들에 의해 확립되어 있다.^{17,18} 그러나 p53과 표재성방광암의 진행과는 아무런 연관이 없다는 결과도 적지 않게 보고되고 있다.^{3,19-21} 최근 경요도절제와 방광 내 BCG요법으로 치료하고 재발과 진행의 위험이 높은 표재성방광암 환자들을 대상으로 p53, p21WAF-CIP1, Ki-67과 같은 다수의 종양표

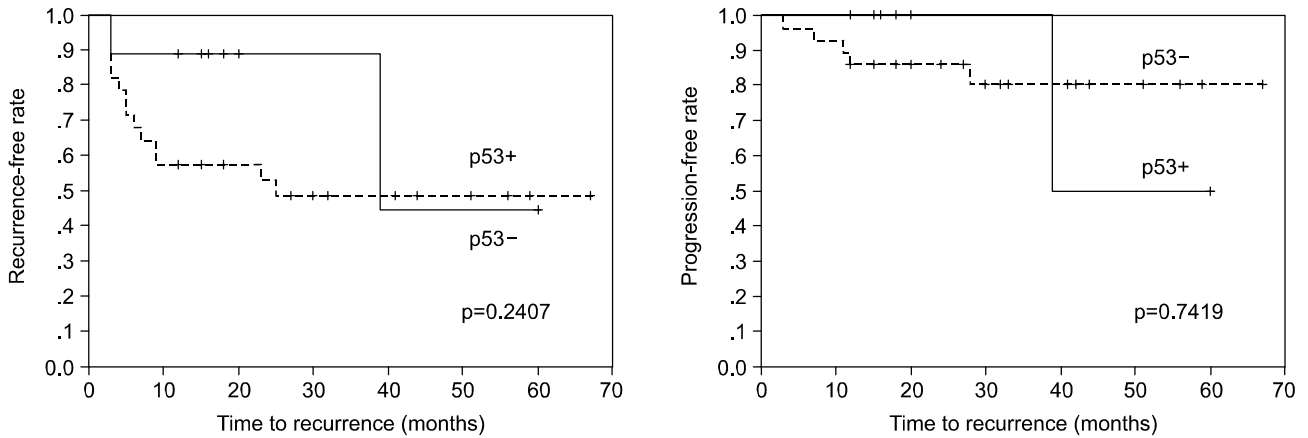


Fig. 2. Kaplan-Meier cumulative recurrence-free and progression-free curves of patients with a stage T1, grade 3 transitional cell carcinoma of the bladder according to the p53 immunoreactivity.

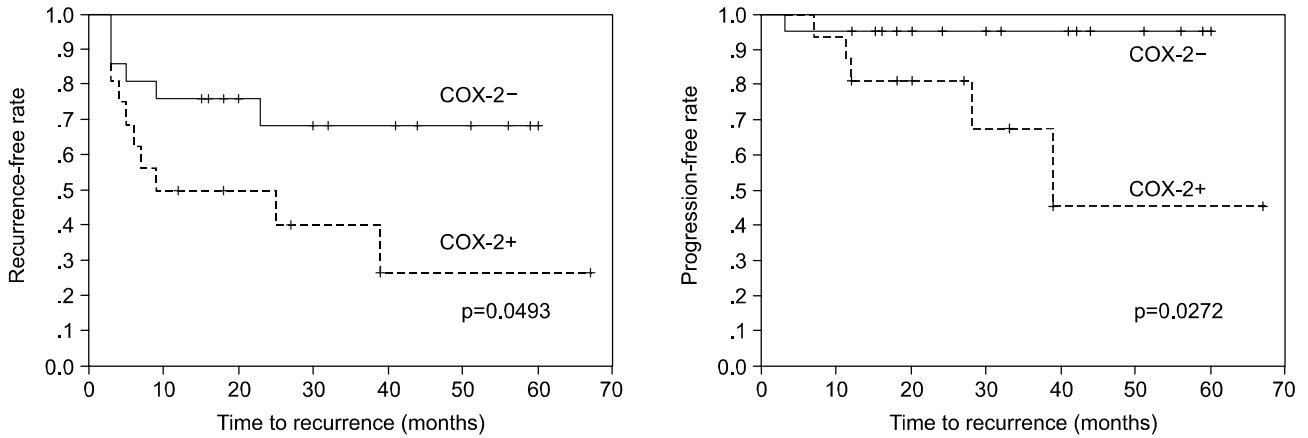


Fig. 3. Kaplan-Meier cumulative recurrence-free and progression-free curves of patients with a stage T1, grade 3 transitional cell carcinoma of the bladder according to the cyclooxygenase-2 (COX-2) immunoreactivity.

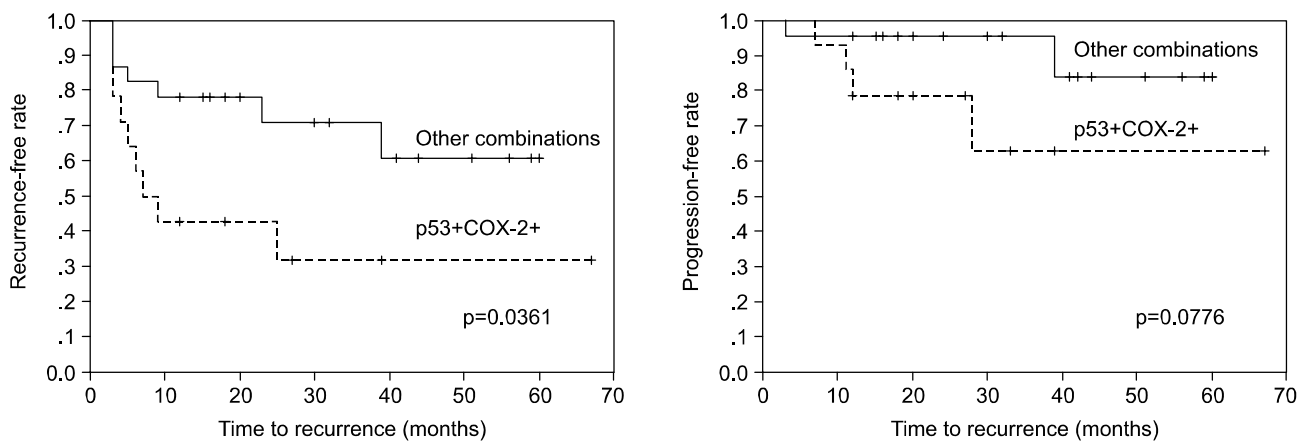


Fig. 4. Kaplan-Meier cumulative recurrence-free and progression-free curves of patients with a stage T1, grade 3 transitional cell carcinoma of the bladder, comparing the combination of p53+ and COX-2+ (p53+COX-2+) and other combinations (i.e. p53-COX-2- or p53-COX-2+ or p53+COX-2-).

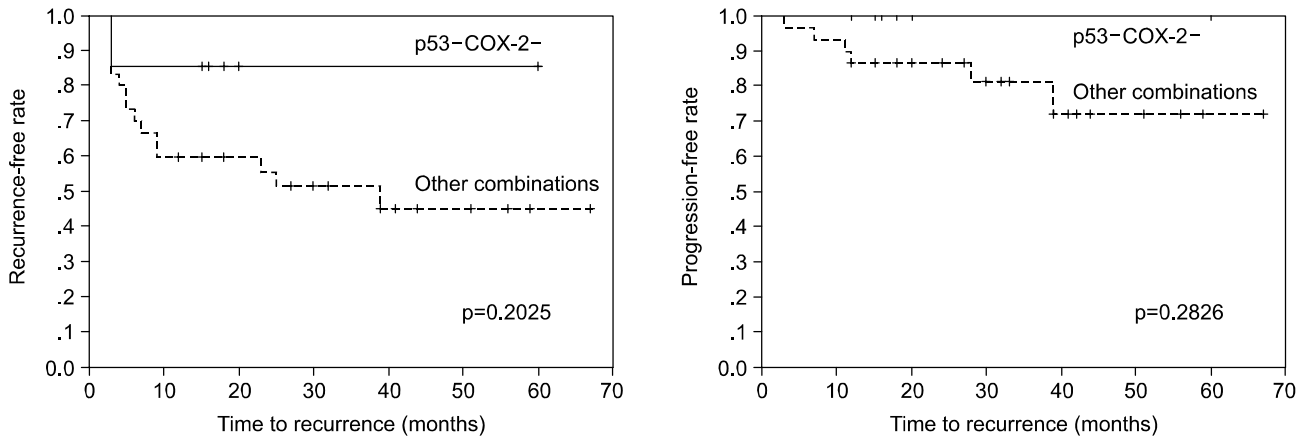


Fig. 5. Kaplan-Meier cumulative recurrence-free and progression-free curves of patients with a stage T1, grade 3 transitional cell carcinoma of the bladder, comparing the combination of p53- and COX-2- (p53-COX-2-) and other combinations (i.e. p53+COX-2+ or p53+COX-2- or p53-COX-2+).

지자의 예후 판정의 가치를 분석한 연구결과에 의하면 이들 중 어느 한 가지도 독립적인 가치를 보여주지 못했다.²² 세포주기조절인자인 p53, MDM2, p21, Ki-67 등을 대상으로 한 유사한 연구에서도 이들 표지자들이 표재성방광암의 재발에 관한 의미 있는 정보를 제공하지 못했다.²³ 이러한 결과들을 종합해볼 때 p53을 비롯한 세포주기조절인자들이 표재성방광암의 예후에 관한 유용한 정보를 제공하는지는 아직 의문시되며 추후 이들의 잠재적인 역할에 대한 새로운 평가가 필요할 것이다.

전체 표재성방광암 중 15%만이 침윤성방광암으로 진행되는 것으로 알려져 있지만 표재성방광암의 약 10%를 차지하는 T1GIII 방광암은 무려 70%의 재발률과 30%의 진행률을 보인다. 이러한 이유로 T1GIII는 표재성방광암 중 임상적으로 가장 중요한 소집단이라 할 수 있다. 따라서 이 소집단에 있어서 암의 진행을 예측할 수 있는 종양표지자를 적절히 이용하는 것이 치료계획의 수립에 매우 중요하다. 그러나 분화도 III에 관해서 보고되고 있는 p53의 양성률은 70-80%로 높아서 예후인자로써의 가치가 오히려 제한적일 수 있다. Leuret 등³은 방광 내 BCG요법을 시행한 35명의 T1GIII 환자들을 평균 51.3개월간 추적한 결과 p53의 과발현이 BCG에 대한 효과를 예측할 수 없다고 결론지었다. Peyromaure 등⁶도 경요도절제와 방광 내 BCG로 치료한 29명의 방광암 환자들을 평균 36개월간 추적한 결과 p53 과발현이 재발이나 진행과 연관이 없다는 것을 입증하였다. T1GIII 방광이행상피암만을 대상으로 한 본 연구도 84%의 높은 p53 발현율을 보였고 BCG 요법 후 재발이나 진행과 p53의 발현 여부가 유의한 상관관계를 나타내지 않는 등 앞선 결과들과 일관성을 보이고 있다.

최근 여러 연구에 의해 방광암에서 COX-2의 존재가 보고됨으로써 COX-2가 방광암의 발생과 성장에 일정부분 역할을 할 것이라는 가능성이 제시되었지만 COX-2 발현과 방광암의 장기적인 운명 간의 연관성과 관련된 보고는 드물다.¹¹⁻¹⁵ Kim 등¹⁶은 본 연구의 대상과 동일한 T1GIII 방광이행상피암 환자들에 있어서 COX-2 발현과 종양의 재발과 진행 사이에 유의한 연관성이 있음을 보고한 바 있다. T1GIII 방광암의 예후를 예측하는 데 실패한 p53과는 달리 COX-2 발현은 43.2%에서 양성을 보였으며 발현여부에 따라 재발과 진행에 통계학적으로 유의한 차이를 보였다. 재발까지의 평균기간은 COX-2 양성군과 음성군 사이에 차이가 없었으나 COX-2 음성인면서 재발한 6명 중 단 한 명(16.7%)만이 근침윤성암으로 진행하였으나 COX-2 양성인면서 재발한 10명 중 5명(50%)이 결국 근침윤암으로 진행하였다. 이러한 차이는 환자수가 적어 비록 통계학적인 유의성은 없었지만 COX-2 양성인 종양은 재발 시마다 악성 성향이 유지 또는 강화되는 반면 COX-2 음성인 종양은 재발 시마다 그것이 약해진다는 의미로 해석될 수도 있다. 본 연구의 결과를 종합하면 비록 환자수가 적어 다변량분석을 통한 COX-2의 상대적인 기여도는 알 수 없었지만 COX-2가 T1GIII 방광이행상피암의 재발과 근침윤과 연관이 있다는 점과 미래에 COX-2가 새로운 생화학적 종양표지자로 이용될 수 있을 가능성을 제시하고 있다.

본 연구에서 p53과 COX-2의 결과를 결합해 본 결과 p53과 COX-2 모두 양성인 경우 COX-2 단독에 비해 재발의 예측에 유의성이 약간 증가하지만 (p=0.049 대 p=0.036) 재발과 진행을 예측하는 데 뚜렷한 상승효과는 나타나지 않았다. 본 연구의 결과를 설명할 수 있는 명백한 근거는 아직

알려져 있지 않다. COX-2와 p53 간의 연관성에 대해서 Han 등²⁴은 p53의 downstream target gene의 하나인 heparin-binding epidermal growth factor-like growth factor (HB-EGF)가 COX-2의 발현을 유도함을 증명하고 이것은 COX-2가 p53-HB-EGFRas/Raf/MAPKCOX-2 pathway의 ultimate effector임을 의미하는 결과라고 보고하였다. 그들은 또한 COX-2가 p53 또는 genotoxic stress에 의해 유도된 세포고사를 방해함을 증명하였다. 상술한 COX-2와 p53 간의 연결고리를 고려할 때 p53의 downstream mediator이면서 최종 효과기의 역할을 하는 COX-2가 p53에 비해 암세포의 세포고사와 생존을 위해 보다 중요한 결정요소로 보는 것이 타당할 것이며, 따라서 T1GIII 방광이행상피암의 예후인자로서 더 가치가 있다고 볼 수 있다. 그러나 COX-2 단독에 비해 p53과 COX-2의 결합이 갖는 가치에 대한 평가가 제대로 이루어지려면 향후 충분한 수의 T1GIII 환자군을 대상으로 하는 연구가 필요하다고 생각한다.

결 론

본 연구의 결과 표재성방광암 중 가장 고위험군인 T1-GIII 이행상피암의 예후를 결정하는 데 있어서 p53보다 COX-2가 더 유용한 것으로 나타났다.

REFERENCES

- Althausen AF, Prout GR Jr, Daly JJ. Non-invasive papillary carcinoma of the bladder associated with carcinoma in situ. *J Urol* 1976;116:575-80
- Fradet Y, Lacombe L. Can biological markers predict recurrence and progression of superficial bladder cancer? *Curr Opin Urol* 2000;10:441-5
- Lebret T, Becette V, Barbagelatta M, Herve JM, Gaudez F, Barre P, et al. Correlation between p53 over expression and response to bacillus Calmette-Guerin therapy in a high risk select population of patients with T1G3 bladder cancer. *J Urol* 1998;159:788-91
- Plastiras D, Moutzouris G, Barbatis C, Presvelos V, Petrakos M, Theodorou C. Can p53 nuclear over-expression, Bcl-2 accumulation and PCNA status be of prognostic significance in high-risk superficial and invasive bladder tumours? *Eur J Surg Oncol* 1999;25:61-5
- Steiner G, Bierhoff E, Schmidt D, Leissner J, Wolf HK, Albers P. p53 immunoreactivity in biopsy specimens of T1G3 transitional cell carcinoma of the bladder - a helpful parameter in guiding the decision for or against cystectomy? *Eur J Cancer* 2000;36:610-4
- Peyromaure M, Weibing S, Sebe P, Verpillat P, Toubanc M, Dauge MC, et al. Prognostic value of p53 overexpression in T1G3 bladder tumors treated with bacillus Calmette-Guerin therapy. *Urology* 2002;59:409-13
- Tsuji M, Kawano S, Tsuji S, Sawaoka H, Hori M, DuBois RN. Cyclooxygenase regulates angiogenesis induced by colon cancer cells. *Cell* 1998;93:705-16
- Williams CS, Tsujii M, Reese J, Dey SK, DuBois RN. Host cyclooxygenase-2 modulates carcinoma growth. *J Clin Invest* 2000;105:1589-94
- Balch CM, Dougherty PA, Cloud GA, Tilden AB. Prostaglandin E2-mediated suppression of cellular immunity in colon cancer patients. *Surgery* 1984;95:71-7
- Tsuji M, DuBois RN. Alterations in cellular adhesion and apoptosis in epithelial cells overexpressing prostaglandin endoperoxide synthase-2. *Cell* 1995;83:493-501
- Mohammed SI, Knapp DW, Bostwick DG, Foster RS, Khan KN, Masferrer JL, et al. Expression of cyclooxygenase-2 (COX-2) in human invasive transitional cell carcinoma (TCC) of the urinary bladder. *Cancer Res* 1999;59:5647-50
- Komhoff M, Guan Y, Shappell HW, Davis L, Jack G, Shyr Y, et al. Enhanced expression of cyclooxygenase-2 in high grade human transitional cell bladder carcinomas. *Am J Pathol* 2000;157:29-35
- Yoshimura R, Sano H, Mitsuhashi M, Kohno M, Chargui J, Wada S. Expression of cyclooxygenase-2 in patients with bladder carcinoma. *J Urol* 2001;165:1468-72
- Shirahama T, Arima J, Akiba S, Sakakura C. Relation between cyclooxygenase-2 expression and tumor invasiveness and patient survival in transitional cell carcinoma of the urinary bladder. *Cancer* 2001;92:188-93
- Ristimaki A, Nieminen O, Saukkonen K, Hotakainen K, Nordling S, Haglund C. Expression of cyclooxygenase-2 in human transitional cell carcinoma of the urinary bladder. *Am J Pathol* 2001;158:849-53
- Kim SI, Kwon SM, Kim YS, Hong SJ. Association of cyclooxygenase-2 expression with prognosis of stage T1 grade 3 bladder cancer. *Urology* 2002;60:816-21
- Sarkis A, Dalbagni G, Cordon-Cardo C, Melamed J, Zhang ZF, Sheinfeld J, et al. Association of p53 nuclear overexpression and tumor progression in carcinoma in situ of the bladder. *J Urol* 1994;152:388-92
- Lacombe L, Dalbagni G, Zhang ZF, Cordon-Cardo C, Fair WR, Herr HW, et al. Overexpression of p53 protein in a high-risk population of patients with superficial bladder cancer before and after bacillus Calmette-Guerin therapy: correlation to clinical outcome. *J Clin Oncol* 1996;14:2646-52
- Gardiner RA, Walsh MD, Allen V, Rahman S, Samarantunga ML, Seymour GS, et al. Immunohistological expression of p53 in primary pT1 transitional cell bladder cancer in relation to tumour progression. *Br J Urol* 1994;73:526-32
- Shiina H, Igawa M, Nagami H, Yagi H, Urakami S, Yoneda T, et al. Immunohistochemical analysis of proliferating cell

- nuclear antigen, p53 protein and nm23 protein, and nuclear DNA content in transitional cell carcinoma of the bladder. *Cancer* 1996;78:1762-74
21. Pages F, Flam TA, Vieillefond A, Molinie V, Abeille X, Lazar V, et al. p53 status does not predict initial clinical response to bacillus Calmette-Guerin intravesical therapy in T1 bladder tumors. *J Urol* 1998;159:1079-84
22. Zlotta AR, Noel JC, Fayt I, Drowart A, Van Vooren JP, Huygen K, et al. Correlation and prognostic significance of p53, p21^{WAF1/CIP1} and Ki-67 expression in patients with superficial bladder tumors treated with bacillus Calmette-Guerin intravesical therapy. *J Urol* 1999;161:792-8
23. Pfister C, Moore L, Allard P, Larue H, Lacombe L, Tetu B, et al. Predictive value of cell cycle markers p53, MDM2, p21, and Ki-67 in superficial bladder tumor recurrence. *Clin Cancer Res* 1999;5:4079-84
24. Han JA, Kim JI, Ongusaha PP, Hwang DH, Ballou L, Mahale A, et al. p53-mediated induction of Cox-2 counteracts p53- or genotoxic stress induced apoptosis. *EMBO J* 2002;21:5635-44
-