

상부요로 이행세포암에서 Cyclooxygenase-2 발현 및 미세혈관 밀도와 예후와의 연관성

Correlation of Cyclooxygenase-2 Expression and Microvessel Density with Prognosis in Transitional Cell Carcinoma of the Upper Urinary Tract

Min Ho Cha, Dae Sung Cho, Hyunee Yim¹, Kang Su Cho², Sung Joon Hong², Nam Hoon Cho³, Sun Il Kim, Hyun Soo Ahn, Se Joong Kim

From the Departments of Urology and ¹Pathology, Ajou University School of Medicine, Suwon, Departments of ²Urology and ³Pathology, Yonsei University College of Medicine, Seoul, Korea

Purpose: The aim of this study was to investigate the relationship of cyclooxygenase (COX)-2 expression and microvessel density (MVD), a reflection of angiogenesis, with prognosis in patients with transitional cell carcinoma of the upper urinary tract (TCC-UUT).

Materials and Methods: Formalin-fixed, paraffin-embedded tissue sections of TCC-UUT from 91 patients, who had undergone radical nephroureterectomy, were examined immunohistochemically using antibodies against COX-2 and CD34. MVD was determined with CD34-stained slides. The expression patterns of COX-2 and MVD were compared with the clinicopathological variables.

Results: The COX-2 expression was significantly correlated with T stage ($p=0.002$), N stage ($p=0.010$), and grade ($p=0.027$). MVD was also significantly correlated with T stage ($p<0.001$), N stage ($p=0.002$), and grade ($p=0.001$). The COX-2 expression was significantly correlated with MVD ($p=0.001$). The survival rate of patients with COX-2 positive tumors or high MVD was significantly lower than that of patients with COX-2 negative tumors or low MVD, respectively ($p=0.0013$, $p=0.0312$). Univariate analyses identified T stage, N stage, grade, COX-2 expression, and MVD as significant prognostic factors for cancer-specific survival; multivariate analyses indicated that T stage was the only independent prognostic factor.

Conclusions: The increased expression of COX-2 and MVD is associated with a worse prognosis in TCC-UUT. The COX-2 expression is correlated with MVD. These results suggest that COX-2 may play an important role in the progression of TCC-UUT and angiogenesis may be affected by COX-2 during the progression of TCC-UUT. (*Korean J Urol* 2007;48: 376-382)

Key Words: Cyclooxygenase 2, Prognosis, Transitional cell carcinoma, Urinary tract

대한비뇨기과학회지
제 48 권 제 4 호 2007

아주대학교 의과대학
비뇨기과학교실, ¹병리학교실,
연세대학교 의과대학
²비뇨기과학교실, ³병리학교실

차민호 · 조대성 · 임현이¹
조강수² · 홍성준² · 조남훈³
김선일 · 안현수 · 김세중

접수일자 : 2007년 1월 15일
채택일자 : 2007년 3월 2일

교신저자 : 김세중
아주대학교병원 비뇨기과
경기도 수원시 영통구 원천동 산
5번지
☎ 443-721
TEL : 031-219-5272
FAX : 031-219-5276
E-mail : sejoong@ajou.ac.kr

서 론

상부요로 이행세포암은 드문 질환으로 전체 요로상피종

양 중 5-6%를 차지하는데, 최근에 진단기술의 발달, 환경적 요인 및 노령 인구의 증가 등으로 인해 발생률이 증가하고 있다.^{1,2} 상부요로는 해부학적으로 근육층이 얇고 신장에 근 접해 있으며 림프관이 풍부하여 종양 침윤이 발생하면 종

양의 진행 및 전이가 쉽게 일어난다.³ 상부요로 이행세포암의 예후인자로는 T 병기, 분화도, 림프절 전이 여부, 림프관 및 혈관 침범 여부, 종양의 위치, 수술 방법 등이 알려져 있으나,^{1,4} 아직까지 종양의 침윤, 진행 및 재발에 관한 분자학적 기전은 확실치 않다.

Cyclooxygenase (COX)-2는 아라키돈산 (arachidonic acid) 으로부터 프로스타글란딘으로 전환하는 데 관여하는 효소인 COX의 두 가지 아형 중 하나로, COX-1과는 달리 체내에 정상적인 상태에서는 발현되지 않다가 cytokine, 성장인자 (growth factor), 종양 촉진제 (tumor promoter) 등의 자극에 의해 발현이 유도된다.⁵ COX-2는 대장암, 위암, 폐암, 자궁경부암, 전립선암, 방광암 등과 같은 여러 종양들에서 과발현되며,⁶ 종양형성 과정에서 COX-2가 암세포의 증식, 세포고사에 대한 저항, 혈관형성 (angiogenesis), 면역억제 및 암 침윤 등에 관여하여 종양의 발생 및 진행에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다.⁷ 그러나 아직까지 상부요로암에서 COX-2의 발현에 관한 연구는 제한적이다.^{3,8}

종양의 혈관형성은 대사 (metabolism)를 위한 양분과 산소를 공급하고 노폐물을 제거함으로써 종양의 성장, 진행 및 전이에 중요한 역할을 한다. 또한 종양 혈관은 약하고 (fragile) 투과성이 높으며 기저막이 불연속적 (discontinuous) 이어서 종양에 의해 침윤되면 정상 혈관보다 전이가 잘 일어난다.^{9,11} 미세혈관밀도 (microvessel density; MVD)는 혈관형성의 지표로 다양한 종양에서 예후와의 연관성이 보고되어 있고,^{9,11} COX-2 발현이 혈관형성에 영향을 미치는 것으로 보고되어 있으나,⁷ 상부요로 이행세포암에서 혈관형성에 관한 연구는 제한적이며,^{12,13} COX-2와 미세혈관밀도를 함께 관찰한 연구는 이루어진 바 없다.

이에 저자들은 상부요로 이행세포암에서 COX-2 발현과 혈관형성의 척도가 되는 미세혈관밀도를 분석하여 예후와의 연관성을 알아보려고 하였다.

대상 및 방법

1. 대상 환자 및 상부요로 이행세포암 조직

1994년 11월부터 2003년 10월까지 아주대학교병원과 연세의료원에서 상부요로 이행세포암으로 진단받고 근치적 신요관전적출술을 받은 환자 중 추적관찰이 가능했던 91명의 보관된 파라핀 포매 조직을 이용하였다. 환자들의 평균 연령은 62.0세 (33-85)였으며, 남자 69명, 여자 22명이었다. 상부요로 이행세포암의 병기는 2002년 American Joint Committee on Cancer (AJCC)의 TNM 분류법에 따랐으며,¹⁴ 분화도는 World Health Organization/International Society of Urological Pathology (WHO/ISUP)의 분류에 근거하였다.¹⁵

2. 면역조직화학염색

파라핀에 포매된 조직 블록을 4 μ m 절편으로 만들어서 슬라이드에 부착한 후 파라핀을 제거하고 재수화시켰다. 0.01M sodium citrate buffer (pH 6.0)에 넣어서 15분간 microwave 처리한 후에 증류수로 세척하고, 3% H₂O₂를 첨가한 methanol로 실온에서 10분간 처리하였다. Tris buffered saline (pH 7.6, Tris Base 1.4g, Tris HCl 6.0g, NaCl 8.7g)으로 세척한 후 Cap-Plus™ Detection kit (ZYMED, San Francisco, USA)에 들어 있는 blocking reagent로 10분간 처리하였다.

일차항체로는 1:200으로 희석된 COX-2에 대한 단일클론항체 (Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, USA)와 미세혈관밀도 측정을 위해 1:350으로 희석된 CD34에 대한 단일클론항체 (NeoMarkers, San Francisco, USA)로 처리하고 습윤상자를 이용하여 37°C에서 1시간 동안 보관한 후, Tris buffered saline (pH 7.6)으로 세척하였다. Cap-Plus™ Detection kit에 들어 있는 이차항체 (biotinylated secondary antibody)로 실온에서 25분간 처리하고 Tris buffered saline (pH 7.6)으로 세척한 후, streptavidin-HRP로 실온에서 25분간 처리하였으며 다시 Tris buffered saline (pH 7.6)으로 세척하였다. 여기에 substrate-chromogen인 diaminobenzidine (DAB)을 사용하여 발색하였다. Mayer's hematoxylin으로 대조염색하고 봉입제로 봉입하여 광학현미경하에서 판독하였다.

양성대조군은 COX-2 면역염색에 대해서는 혈관 평활근 세포의 염색으로 이용하였고, 음성대조군은 일차항체를 처리하지 않은 것으로 하였다.

3. COX-2 면역조직화학염색의 분석

COX-2 발현은 세포질의 염색을 기준으로 하였다. 발현 정도의 분석을 위해서는 Sinicrope 등¹⁶이 이용한 방법을 약간 변형하여 사용하였으며, 염색부분 (proportion; percentage of positive cells)과 염색강도 (intensity)에 따라 반정량적으로 점수화하였다. 염색부분은 5단계로 분류하였는데, 10% 이하로 염색된 경우에는 0, 11-25%는 1, 26-50%는 2, 51-75%는 3, 76-100%는 4로 하였다. 염색강도는 4단계로 분류하였는데, 염색이 전혀 되지 않는 경우를 0, 평활근세포와 같은 정도로 염색된 경우를 2로 정하고, 0과 2사이 정도의 염색강도를 1, 2보다 염색강도가 강할 때를 3으로 하였다 (Fig. 1). COX-2 염색점수 (score)는 각각의 예에서 염색부분과 염색강도의 값을 곱하여 계산하였고, 생존율 평가를 위하여 염색점수가 6 이상인 경우를 양성으로 정하였다.

4. 미세혈관밀도의 분석

미세혈관밀도의 분석은 CD34에 대한 항체로 면역조직화

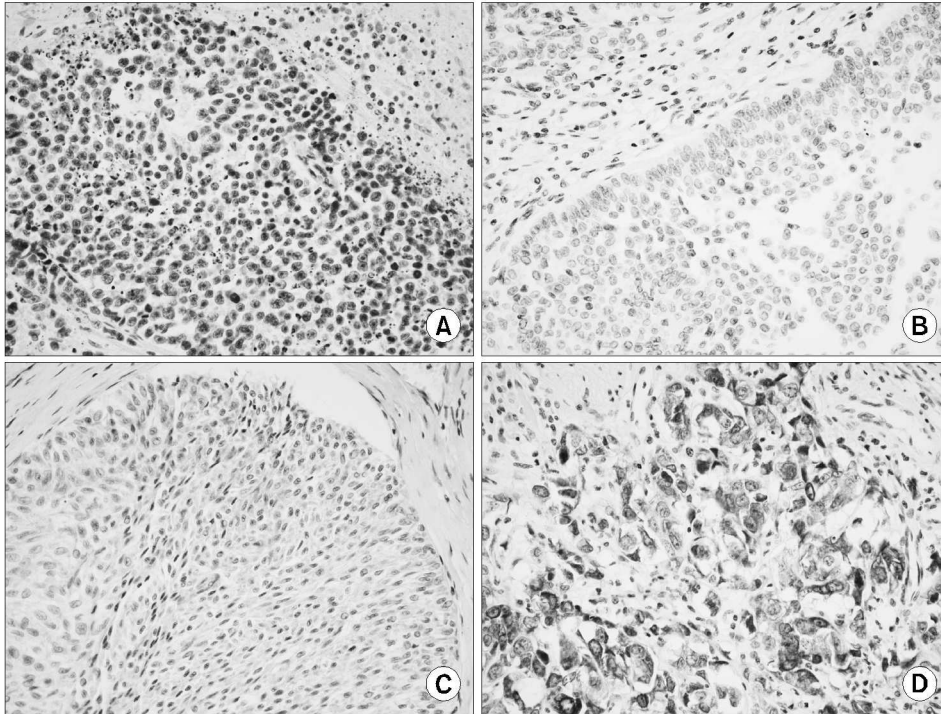


Fig. 1. Immunohistochemical staining for cyclooxygenase-2 (COX-2) in transitional cell carcinoma of the upper urinary tract tissues (x400). (A) Cancer cells are not stained (COX-2 intensity 0). (B) Smooth muscle cells are stained as an internal control. Cancer cells are stained weakly compared to an internal control (intensity 1). (C) Cancer cells are stained in same intensity as internal control (intensity 2). (D) Cancer cells are strongly stained for COX-2 (intensity 3).

학염색을 시행한 슬라이드에서 Weidner 등¹¹이 이용한 방법과 동일하게 분석하였다. 종양의 내부와 인접부위 중에서 혈관이 가장 많은 부위를 선택해서 200배 배율로 3개의 시야에서 미세혈관 수를 측정하여 그 평균치를 미세혈관밀도로 나타냈다. 내강의 형성 여부와 관계 없이 주위의 미세혈관과 분리된 한 개 이상의 내피세포로 이루어진 혈관은 모두 계산하였고, 서로 문합되는 동양혈관 (sinusoidal vessel) 들은 한 개로 계산하였으며, 두꺼운 근육층을 가지고 있는 큰 혈관은 계산에서 제외하였다.

5. 통계학적 분석

COX-2 발현 (COX-2 염색점수) 혹은 미세혈관밀도와 여러 임상병리학적 변수들과의 연관성에 관한 분석을 위해서는 chi-square test 혹은 independent-sample t-test를 이용하였다. COX-2 발현과 미세혈관밀도와의 상관관계는 independent-sample t-test를 이용하여 분석하였다. 단변량 및 다변량 분석을 위해 미세혈관밀도의 중앙값을 절단치로 하여 미세혈관밀도가 높은 군과 낮은 군으로 분류하였다. 생존율은 Kaplan-Meier법을 이용하였고, 단변량 분석은 log-rank test로 검증하였으며, 다변량 분석은 Cox proportional hazards regression model을 이용하였다. 각각의 통계학적 분석은 p 값이 0.05 미만인 경우에 통계학적으로 유의한 것으로 판정하였다.

Table 1. Clinicopathological data

Characteristics	No. of patients (%)
T stage	
Ta	8 (8.8)
T1	51 (56.0)
T2	9 (9.9)
T3	19 (20.9)
T4	4 (4.4)
N stage	
N0	84 (92.3)
N1	5 (5.5)
N2	2 (2.2)
Grade	
Low	36 (39.6)
High	55 (60.4)
Tumor location	
Renal pelvis	50 (54.9)
Ureter	41 (45.1)
Previous history of bladder cancer	
No	84 (92.3)
Yes	7 (7.7)
Coexisting bladder cancer	
No	83 (91.2)
Yes	8 (8.8)
Bladder cancer recurrence	
No	58 (63.7)
Yes	33 (36.3)

결 과

본 연구에 이용한 상부요로 이행세포암 환자 91명의 임상병리학적 특성은 Table 1에 요약하였다. 전체 환자 91명 중 65명의 환자에서는 근치적 신요관전절출술 후 평균 58.4개월, 중앙값 53개월 (12-162)의 추적관찰 기간 동안에 완전 관해 상태를 유지하였고, 26명에서는 술 후 평균 29.1개월, 중앙값 27개월 (4-86)에 원격전이가 발생하였는데 추적관찰 도중에 모두 사망하였다.

COX-2 발현은 전체 환자 91명 중 18명 (19.8%)에서 양성 이었고, 73명 (80.2%)에서는 음성이었다. 전체 환자 91명의 미세혈관밀도는 평균 58.1, 중앙값 53 (19-197)이었고, COX-2 발현 양성인 환자의 미세혈관밀도의 평균치는 77.4로 COX-2 발현 음성인 환자의 미세혈관밀도의 평균치 53.3과 비교하여 통계적으로 유의하게 증가되어 있었다 (p=0.001).

COX-2 발현은 T 병기 (p=0.002), N 병기 (p=0.010) 및 분화도 (p=0.027)와 통계학적으로 유의한 연관성을 보였고, 중앙의 위치 (p=0.126), 방광암의 과거력 (p=0.171), 동반된 방광

암의 유무 (p=0.698) 및 추적관찰 중 방광암 재발 유무 (p=0.176)와는 연관성이 없었다 (Table 2).

미세혈관밀도는 T 병기 (p<0.001), N 병기 (p=0.002) 및 분화도 (p=0.001)와 통계학적으로 유의한 연관성을 보였고, 중앙의 위치 (p=0.060), 방광암의 과거력 (p=0.644), 동반된 방광암의 유무 (p=0.453) 및 추적관찰 중 방광암 재발 유무 (p=0.860)와는 연관성이 없었다 (Table 2).

Kaplan-Meier 생존곡선에서 COX-2 발현 양성인 환자는 음성인 환자에 비해 통계학적으로 유의하게 생존율의 감소를 보였고 (p=0.0013) (Fig. 2A), 미세혈관밀도가 높은 환자는 미세혈관밀도가 낮은 환자에 비해 통계학적으로 유의하게 생존율의 감소를 보였다 (p=0.0312) (Fig. 2B).

암특이 생존율에 영향을 미치는 인자들을 확인하기 위하여 단변량 및 다변량 분석을 시행해 본 결과 단변량 분석에서는 T 병기 (p=0.0001), N 병기 (p=0.0343), 분화도 (p=0.0352), COX-2 발현 (p=0.0013) 및 미세혈관밀도 (p=0.0312)가 통계학적으로 유의한 예후인자였다. 다변량 분석에서는 T 병기 (p=0.010)만이 독립적인 예후인자였고, COX-2 발현 및 미세혈관밀도는 독립적인 예후인자는 아니었다 (Table 3).

Table 2. Relationship between COX-2 expression or microvessel density and clinicopathological variables

Variables	No. of patients (%)		p-value*	MVD	p-value [†]
	COX-2 (-)	COX-2 (+)			
T stage					
Superficial (Ta +T1)	53 (89.8)	6 (10.2)	0.002	44.56 ±19.34	<0.001
Invasive (T2-T4)	20 (62.5)	12 (37.5)		83.03 ±28.20	
N stage					
N0	70 (83.3)	14 (16.7)	0.010	55.42 ±25.65	0.002
N1 +N2	3 (42.9)	4 (57.1)		90.14 ±49.45	
Grade					
Low	33 (91.7)	3 (8.3)	0.027	45.75 ±22.69	0.001
High	40 (72.7)	15 (27.3)		66.16 ±30.42	
Tumor location					
Renal pelvis	43 (86.0)	7 (14.0)	0.126	63.08 ±34.22	0.060
Ureter	30 (73.2)	11 (26.8)		52.00 ±20.57	
Previous history of bladder cancer					
No	66 (78.6)	18 (21.4)	0.171	58.50 ±29.93	0.644
Yes	7 (100)	0 (0)		53.14 ±20.55	
Coexisting bladder cancer					
No	67 (80.7)	16 (19.3)	0.698	58.81 ±30.13	0.453
Yes	6 (75.0)	2 (25.0)		50.63 ±17.49	
Bladder cancer recurrence					
No	49 (84.5)	9 (15.5)	0.176	58.50 ±31.47	0.860
Yes	24 (72.7)	9 (27.3)		57.36 ±25.37	

COX-2: cyclooxygenase-2, MVD: microvessel density. *: analyzed by chi-square test, †: analyzed by independent-sample t-test.

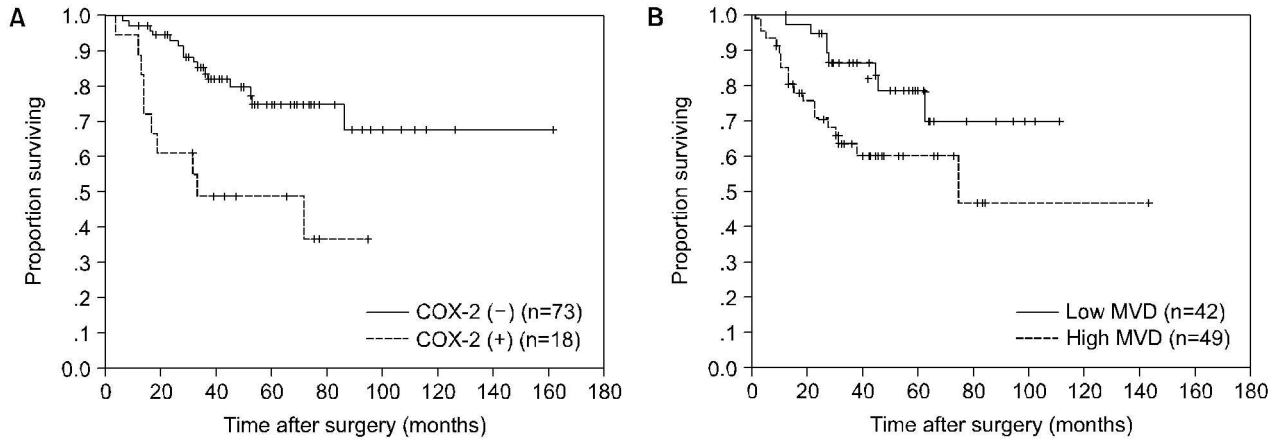


Fig. 2. Kaplan-Meier cancer-specific survival curves according to cyclooxygenase-2 (COX-2) expression (A) or microvessel density (MVD) (B). The survival rate of patients with COX-2 positive tumors or high MVD was significantly lower than that of patients with COX-2 negative tumors or low MVD, respectively (p=0.0013, p=0.0312).

Table 3. Univariate and multivariate survival analyses

Variables	Univariate*	Multivariate†	
	p-value	Hazards ratio	p-value
T stage	0.0001	4.164	0.010
N stage	0.0343	1.171	0.802
Grade	0.0352	1.431	0.551
Tumor location	0.9235	1.017	0.972
Previous history of bladder cancer	0.3867	2.230	0.287
Coexisting bladder cancer	0.7075	1.310	0.694
Bladder cancer recurrence	0.5185	1.276	0.569
COX-2	0.0013	2.360	0.091
MVD	0.0312	0.716	0.588

COX-2: cyclooxygenase-2, MVD: microvessel density. *: analyzed by log-rank test, †: analyzed by COX proportional hazards regression model.

고 찰

COX-2의 과발현은 여러 종양들에서 관찰되었고 대개의 경우 종양의 불량한 예후와 연관이 있다고 밝혀졌다.⁶ 요로상피암 중에서 방광암 환자를 대상으로 한 연구들을 살펴보면 COX-2는 독립적인 예후인자는 아니지만 방광암의 진행에 중요한 역할을 한다고 보고되어 있다.^{6,17-20}

상부요로 이행세포암에서 COX-2 발현에 관한 연구는 지금까지 2편의 논문만이 보고되었다. Miyata 등³은 비전이성 상부요로 이행세포암으로 근치적 수술을 받은 환자 101명을 대상으로 한 연구에서 COX-2 발현은 T 병기, 분화도 및

요로 바깥 부위에서의 재발과 유의한 연관성이 있었고, COX-2 발현 양성인 환자는 COX-2 발현 음성인 환자에 비해 유의하게 생존율의 감소를 보였다. 그러나 COX-2 발현은 암특이 생존율의 독립적인 예후인자는 아니었다. Oku 등⁸의 연구에서는 상부요로 이행세포암으로 신요관전적출술을 받은 환자 144명을 대상으로 분석한 결과 COX-2 발현은 종양의 분화도와 통계학적으로 유의한 연관성이 있었으나 그 외의 다른 변수들(성별, T 병기, 침윤 형태, 혈관 혹은 림프관 침범)과는 연관성이 없다고 하였다. 이 연구에서는 COX-2 발현에 따른 생존율에 대한 분석은 시행하지 않았다.

본 연구에서는 COX-2 발현은 T 병기, N 병기 및 분화도와 통계학적으로 유의한 연관성을 보였고, COX-2 발현 양성인 환자는 COX-2 발현 음성인 환자에 비해 유의하게 생존율의 감소를 보였으며, 암특이 생존율에 대한 단변량 분석에서 COX-2 발현은 통계학적으로 유의한 예후인자였으나 다변량 분석에서는 독립적인 예후인자는 아니어서, Miyata 등³의 결과와 일치하는 소견을 보였다.

COX-2는 종양형성 과정에서 혈관형성에 영향을 미치는 것으로 알려져 있으며, 그 기전으로는 vascular endothelial growth factor (VEGF), basic fibroblast growth factor (bFGF) 등과 같은 전혈관형성 (pro-angiogenic) 매개체들의 발현을 증가시키고, 신생혈관형성을 자극하는 thromboxane A2, PGE2, PGI2의 생성을 증가시키며, bcl-2나 Akt의 활동을 자극하여 혈관내피세포의 세포고사를 억제함으로써 종양의 신생혈관형성과 성장을 지지하는 것으로 알려져 있다.⁷

요로상피암 중에서 방광암 환자를 대상으로 한 연구들을 살펴보면, Friedrich 등²¹은 표재성 방광암 환자에서 COX-2 발현과 미세혈관밀도 사이에 연관성이 있으므로 방광암에

서 COX-2가 혈관형성에 관여함을 알 수 있으나 COX-2 발현은 종양의 재발이나 진행에 대한 예후인자로서는 가치가 없다고 하였다. Li 등²²은 COX-2는 침윤성 암에서만 발현되었고, COX-2 발현은 암의 침윤 정도 및 미세혈관밀도와 연관이 있으므로 방광암에서 COX-2가 혈관형성에 관여한다고 하였다.

상부요로 이행세포암에서 미세혈관밀도에 관한 연구는 지금까지 2편의 논문만이 보고되었다. Inoue 등¹²은 상부요로 이행세포암으로 신요관전적출술을 받은 55명의 환자를 대상으로 한 연구에서 미세혈관밀도, matrix metalloproteinase type 2 (MMP-2), MMP-9, MMP:E-cadherin ratio (M:E ratio)가 암특이 생존율에 대한 예후인자였고, 그중 M:E ratio만이 독립적인 예후인자였으며 미세혈관밀도는 독립적인 예후인자는 아니었다고 하였다. Zhang 등¹³은 42명의 상부요로 이행세포암 환자를 대상으로 한 연구에서 미세혈관밀도와 Ki-67은 병기와 연관성이 있고 미세혈관밀도와 Ki-67 사이에 연관성이 있으므로, 세포증식과 혈관형성에 대한 평가는 상부요로 이행세포암의 진행을 예측하는 데 유용하리라고 하였다.

본 연구에서는 미세혈관밀도는 T 병기, N 병기 및 분화도와 통계학적으로 유의한 연관성을 보였고, 미세혈관밀도가 높은 환자는 미세혈관밀도가 낮은 환자에 비해 유의하게 생존율의 감소를 보였으며, 암특이 생존율에 대한 단변량 분석에서 미세혈관밀도는 통계학적으로 유의한 예후인자였으나 다변량 분석에서는 독립적인 예후인자는 아니었다. 또한 본 연구에서는 COX-2 발현과 미세혈관밀도를 함께 분석해 본 결과 COX-2 발현이 증가된 환자에서 미세혈관밀도가 높게 나타났다.

결 론

상부요로 이행세포암에서 COX-2 발현 및 미세혈관밀도의 증가는 병기 및 분화도와 연관성이 있고, 비록 독립적인 예후인자는 아니지만 불량한 예후와 연관이 있으며, COX-2 발현과 미세혈관밀도 사이에 유의한 연관성이 있었다. 따라서 COX-2는 상부요로 이행세포암의 진행에 있어서 중요한 역할을 하며, 그 기전 중에는 혈관형성이 관여하리라 생각한다.

REFERENCES

- Iborra I, Solsona E, Casanova J, Ricos JV, Rubio J, Climent MA. Conservative elective treatment of upper urinary tract tumors: a multivariate analysis of prognostic factors for recurrence and progression. *J Urol* 2003;169:82-5
- Cho KS, Cho NH, Choi YD. Pattern of recurrence and the prognostic factors of upper urinary tract transitional cell carcinoma. *Korean J Urol* 2006;47:124-30
- Miyata Y, Kanda S, Nomata K, Eguchi J, Kanetake H. Expression of cyclooxygenase-2 and EP4 receptor in transitional cell carcinoma of the upper urinary tract. *J Urol* 2005;173:56-60
- Langner C, Hutterer G, Chromecki T, Winkelmayr I, Rehak P, Zigeuner R. pT classification, grade, and vascular invasion as prognostic indicators in urothelial carcinoma of the upper urinary tract. *Mod Pathol* 2006;19:272-9
- Vane JR, Bakhle YS, Botting RM. Cyclooxygenases 1 and 2. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 1998;38:97-120
- Park MK, Chung JI, Jung SJ, Choi SH. Expression of cyclooxygenase-2 in urothelial carcinoma of the human urinary bladder. *Korean J Urol* 2005;46:1155-60
- Pruthi RS, Derksen E, Gaston K. Cyclooxygenase-2 as a potential target in the prevention and treatment of genitourinary tumors: a review. *J Urol* 2003;169:2352-9
- Oku S, Higashi M, Imazono Y, Sueyoshi K, Enokida H, Kubo H, et al. Overexpression of cyclooxygenase-2 in high-grade human transitional cell carcinoma of the upper urinary tract. *BJU Int* 2003;91:109-14
- Sharma S, Sharma MC, Sarkar C. Morphology of angiogenesis in human cancer: a conceptual overview, histoprognostic perspective and significance of neoangiogenesis. *Histopathology* 2005;46:481-9
- Blood CH, Zetter BR. Tumor interactions with the vasculature: angiogenesis and tumor metastasis. *Biochim Biophys Acta* 1990;1032:89-118
- Weidner N, Carroll PR, Flax J, Blumenfeld W, Folkman J. Tumor angiogenesis correlates with metastasis in invasive prostate carcinoma. *Am J Pathol* 1993;143:401-9
- Inoue K, Kamada M, Slaton JW, Fukata S, Yoshikawa C, Tamboli P, et al. The prognostic value of angiogenesis and metastasis-related genes for progression of transitional cell carcinoma of the renal pelvis and ureter. *Clin Cancer Res* 2002;8:1863-70
- Zhang X, Kong C, Takenaka I. Evaluation of cell proliferation, apoptosis, and angiogenesis in transitional cell carcinoma of the renal pelvis and ureter. *Urology* 2001;57:981-5
- Greene FL, Page DL, Fleming ID, Fritz AG, Balch CM, Haller DG, et al. *AJCC cancer staging manual*. 6th ed. New York: Springer-Verlag; 2002;329-31
- Epstein JI, Amin MB, Reuter VR, Mostofi FK. The World Health Organization/International Society of Urological Pathology consensus classification of urothelial (transitional cell) neoplasms of the urinary bladder. *Bladder Consensus Conference Committee. Am J Surg Pathol* 1998;22:1435-48
- Sinicropo FA, Ruan SB, Cleary KR, Stephens LC, Lee JJ, Levin B. bcl-2 and p53 oncoprotein expression during colorectal tumorigenesis. *Cancer Res* 1995;55:237-41

17. 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
 18. Gurocak S, Sozen S, Erdem O, Özkan S, Kordan Y, Alkibay T, et al. Relation between cyclooxygenase-2 expression and clinicopathologic parameters with patient prognosis in transitional cell carcinoma of the bladder. *Urol Int* 2006;76:51-6
 19. Shariat SF, Matsumoto K, Kim J, Ayala GE, Zhou JH, Jian W, et al. Correlation of cyclooxygenase-2 expression with molecular markers, pathological features and clinical outcome of transitional cell carcinoma of the bladder. *J Urol* 2003;170: 985-9
 20. 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
 21. Friedrich MG, Toma MI, Petri S, Huland H. Cyclooxygenase-2 promotes angiogenesis in pTa/T1 urothelial bladder carcinoma but does not predict recurrence. *BJU Int* 2003;92:389-92
 22. Li G, Yang T, Li L, Yan J, Zeng Y, Yu J, et al. Cyclooxygenase-2 parallels invasive depth and increased MVD in transitional cell carcinoma. *Colloids Surf B Biointerfaces* 2004;37: 15-9
-