

방광의 요로상피암에서 Minichromosome Maintenance7 증식표지자의 발현과 임상적 의의

The Expression and Clinical Significance of the Minichromosome Maintenance (MCM) 7 Proliferation Markers in Urothelial Carcinomas of the Bladder

Young-Hee Maeng, Hyun Wook Kang², Jung-Sik Huh¹

From the Departments of Pathology, ¹Urology and ²Forensic Medicine, School of Medicine, Cheju University, Jeju, Korea

Purpose: The antibodies for minichromosome maintenance (MCM) proteins have been reported as potential proliferative markers and prognostic indicators in various human malignancies. The present study examined the expression pattern of MCM proteins in bladder carcinomas, and we also evaluated their prognostic significance as well as their potential applicability as proliferation markers.

Materials and Methods: Immunohistochemistry for MCM7 and Ki-67 was performed on paraffin sections from 47 cases of bladder carcinoma. The MCM7 and Ki-67 expressions were quantified and then analysis was carried out for determining the association between the expressions of MCM7 and Ki-67 and the clinicopathological parameters.

Results: A significant correlation existed between the expression rate of MCM7 and the histological grade ($p < 0.0001$). The Ki-67 expression rate was significantly related to the tumor grade ($p = 0.002$) and the pathological stage ($p = 0.011$). On multivariate analysis, MCM7 was not found to be an independent prognostic factor for predicting the recurrence of bladder carcinoma.

Conclusions: The results suggest that MCM is a reliable proliferation marker, but not an independent predictive factor for recurrence of bladder carcinoma. (Korean J Urol 2008;49:12-17)

Key Words: Transitional cell carcinoma, MCM7 protein, Ki-67

대한비뇨기과학회지
제 49 권 제 1 호 2008

제주대학교 의과대학 병리학교실,
¹비뇨기학교실, ²법의학교실

맹영희 · 강현욱² · 허정식¹

접수일자 : 2007년 6월 18일
채택일자 : 2007년 10월 12일

교신저자: 허정식
제주대학교병원 비뇨기과
제주 제주시 삼도1동 154번지
☎ 130-702
TEL: 064-750-1120
FAX: 064-959-6048
E-mail: urohjs@cheju.ac.kr

본 논문은 제주대학교병원의 연구기금으로 이루어졌음.

서 론

최근 들어 악성종양과 관련한 새로운 분자생물학적 표지자를 찾기 위한 노력들이 활발히 이루어지고 있는데 이는 암의 발생 및 진행과정을 밝히는 것은 물론 암 환자의 임상 경과와 예후를 예측하는 데 있어서도 도움을 얻을 수 있기 때문이다. 종래에 사용되고 있는 예후 관련 인자들과 더불어 각 증례의 분자생물학적 상태를 나타내줄 수 있는 표지자를 이용한다면 환자 개개인에게 가장 적절한 관리 방안을 마련하고 나아가 조기에 적극적인 치료가 필요한 경우를 선별할 수도 있을 것이다. 일반적으로 가장 널리 알려진

악성 종양의 예후인자로는 조직학적 등급과 임상병기 등을 들 수 있으며 다양한 종류의 종양유전자와 세포주기 조절 인자 등이 이에 보조적인 역할을 할 수 있을 것으로 예상된다. 이미 유방의 침윤성관암에서는 estrogen receptor, progesterone receptor, bcl-2, p53, HER2/new 및 Ki-67 등의 발현 정도를 평가하여 치료계획을 수립하고 예후를 추정하는 데 반영하고 있다.

종양 내 증식세포의 분획이 암의 조직학적 등급과 관련 있음이 밝혀지면서¹ PCNA와 Ki-67 등의 세포증식 표지자를 이용하여 종양의 증식세포 분획을 알아내고자 하는 연구들이 활발히 이루어지고 있다. Minichromosome maintenance (MCM) 단백질은 새롭게 밝혀진 세포증식 표지자 중

하나로 일부 악성 종양에서 종양의 예후 인자로서 가치가 있다는 연구 결과들이 보고되었다.² 이것이 처음 발견된 것은 *Saccharomyces cerevisiae*에서였으나³ 이후 대부분의 다른 유핵세포에서도 거의 동일한 유전자 배열을 유지하고 있다는 사실이 밝혀졌다.⁴ 이 중 MCM2-7은 구조적으로 서로 유사한 6개의 단백질로 이루어져 있으며 이들은 DNA의 합성을 시작하게 하는 복제개시복합체 (replication initiation complex)를 이루는 데 핵심적인 구성요소이다.⁴ 유핵세포의 증식에 있어서 핵산 복제의 어려움은 각각의 게놈이 한 세포주기당 한 번씩만 정확히 복제되어야 한다는 데에 있다. 더욱이 인간 게놈은 하나의 연속된 형태가 아니라 46개의 염색체로 나뉘어있고 각각의 염색체는 수천 개의 복제 시작점 (origins of replication)을 가지고 있다.⁵ 이 중 복제가 필요한 DNA의 기시부위에 시작점인지 복합체 (origin recognition complex)와 MCM, Cdc6가 모이면 비로소 염색질의 복제 활동이 시작된다. 그 후 핵산 복제 과정이 진행되면서 MCM 복합체의 각 단위 단백질들은 인산화된 후 해체되어 결국 핵산으로부터 유리됨으로써 염색질은 다시 휴지기 상태가 된다. 반면 복제되지 않은 핵산에는 MCM 단백질이 결합된 채로 남아있어 아직 복제해야 할 부분임을 표시하게 된다.⁵ 이러한 과정을 통하여 DNA는 한 세포주기당 단 한 번씩만 복제된다. 세포주기의 전 과정에 걸쳐 풍부하게 발현되던 MCM 단백질은 세포가 주기를 빠져나간 휴지 세포, 노화 세포 및 분화가 완료된 세포에서는 나타나지 않는다.⁴

백혈병, 림프종, 자궁경부암, 결장암, 폐암, 위암, 신장암, 유방암과 악성 흑색종 등 다양한 종류의 인체 암과 전암성 병변에서 MCM 단백질의 발현이 증가하였다고 보고되었고⁶ Tachibana 등⁵은 MCM 단백질의 과발현이 일부 암의 예후와도 관련이 있다고 주장하였다.

핵산 복제에 있어서 MCM2-7 복합체를 이루는 각 단위 단백질들의 고유한 기능은 아직 명확히 정립되어 있지는 않으나 몇몇 동물 실험 연구에서 MCM4/6/7과 MCM2 및 MCM3/5가 서로 다른 기능을 한다고 보고된 바 있다.⁷

요로상피암에서의 MCM 단백질 발현에 관한 연구는 2003년에 Kruger 등⁸이 T1 병기의 방광암으로 연구한 바가 있고 2005년에는 Korkolopoulou 등⁹이 T2, T3의 방광암을 대상으로 한 발표가 있었다. 이들 연구에서는 각각 MCM2와 MCM3 및 5가 이용되었으며 이후 후속연구가 충분히 진행되지 않은 상태이다. 더욱이 국내에서는 방광암 조직을 대상으로 시행한 MCM 단백질에 관한 연구가 아직 발표된 바 없다. 본 연구에서는 방광암 환자의 조직표본에서 종래의 연구에서 다루어지지 않은 MCM7 단백질의 발현 분포를 알아보고 이를 기존의 예후인자들과 비교 분석하였으며 MCM2, 3 및 5를 이용한 연구 결과들과도 비교하였다. 아울

러 현재 널리 사용되고 있는 증식 표지자의 하나인 Ki-67의 발현 양상과도 비교하여 새로운 증식표지자로서의 적용 가능성을 평가해보고자 하였다.

대상 및 방법

1. 연구 대상

2002년부터 2005년까지 본원에서 진단된 방광암 중 조직표본의 상태가 양호하고 임상기록의 검토가 가능한 47례를 대상으로 하였다. 진단 당시 병리학적 진단은 요로상피암이었고 조직학적 등급은 1999년에 발표된 WHO/ISUP 체계를 사용하여 저악성 유두상종양 (papillary urothelial neoplasm of low malignant potential), 저등급 유두상암종 (papillary urothelial carcinoma, low-grade), 고등급 유두상암종 (papillary urothelial carcinoma, high-grade)으로 나누었다. 모든 증례는 진단 당시의 병리소견을 참고하지 않은 채 재검색을 시행하였고 진단이 일치하지 않은 경우는 1999년 WHO/ISUP 그룹의 제안을 참고로 하여 다시 한 번 분류하였다.

총 47명 중 남성이 33명 (70.2%)이고 여성이 14명 (29.8%)이었다. 환자의 평균 연령은 66.1세로 33세부터 87세의 분포를 보였다. 종양의 조직학적 등급 분포는 저악성 유두상종양이 3례 (6.4%), 저등급 유두상암종 26례 (55.3%), 그리고 고등급 유두상암종이 18례 (38.3%)였다. Ta 병기에 해당하는 환자가 24명 (51.1%)이었고 T1 환자는 18명 (38.3%), T2와 T3는 각각 4례 (8.5%)와 1례 (2.1%)였다.

2. 면역조직화학법

각 증례 중 가장 적절한 표본을 선정하여 4 μm 두께로 박절하고 탈파라핀 및 흡수 과정을 거쳐 streptavidin-biotin complex immunoperoxidase 방식으로 면역조직염색을 시행하였다. 항원 추출을 위하여 조직표본을 10mM (pH 6.0)의 시트르산 완충액에 넣어 microwave oven에서 9분간 가열하였고 내인성 과산화효소의 활성을 억제하기 위하여 0.3% H2O2에 20분간 반응시켰다. MCM7 (Genetex Inc., San Antonio, USA)와 Ki-67 (DAKO, Carpinteria, USA)에 대한 단클론성 항체를 각각 1:50과 1:100으로 희석하여 상온에서 2시간 반응시킨 후 이차 항체인 biotin-labeled antimouse immunoglobulin G와 1시간 반응시켰다. 발색제로는 3,3-diaminobenzidine-hydrogen peroxide를 사용하였고 헤마톡실린으로 대조염색을 시행하였다. 염색을 시행할 때는 매번 구개편도 조직을 이용하여 양성대조염색을 동시에 실시하였으며 일차항체를 생략한 음성대조염색도 함께 시행하였다.

3. 결과 판독 및 통계

면역염색의 판독은 각 증례의 임상정보를 모르는 상태에서 진행하였다. 종양세포의 핵에 분명하게 염색이 된 경우를 양성으로 하였으며 세 군데의 고배율 (x400) 시야에서 표본을 관찰하여 전체 종양 세포 중 양성으로 염색된 종양 세포들의 백분율을 구하였다. MCM7 및 Ki-67에 양성인 종양 세포의 백분율에 따라 전체 증례를 0-20% (a), 21-40% (b), 41-60% (c), 61-80% (d), 81-100% (e)의 5가지 양성률 군으로 나누었다. 양성률 군의 분류는 Kuczyk 등¹⁰의 방법을 따랐다.

면역염색 결과와 종양의 조직학적 등급 및 병기와의 관계는 chi-square test를 이용하여 분석하였고 임상 및 병리학 적 인자들이 예후에 미치는 영향은 Cox Proportional Regression Hazard Model을 이용하여 다변량 분석을 실시하였으

며, p값이 0.05 미만인 경우에 통계학적 의의가 있는 것으로 간주하였다.

결 과

1. MCM7 양성률과 조직학적 등급 및 병기와의 관계

MCM7 단백질의 발현은 저등급 암종에서는 양성률 21-40%인 b군이, 고등급 암종에서는 양성률 61-80%인 d군이 가장 많았고 저악성 유두상종양은 3례 모두 양성률 20% 이하인 a군이였다 (Fig. 1, 2). 조직학적 등급이 높아질수록 MCM7의 양성률도 높아지는 소견을 보였으며 이는 통계학적으로 유의하였다 (p<0.0001, Table 1).

병기에 따른 MCM7 양성률 분포는 Table 1과 같았으며 통계학적으로 유의한 차이는 나타나지 않았다 (p=0.208).

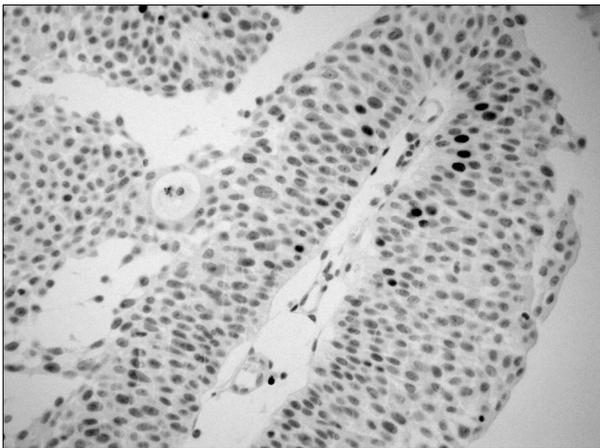


Fig. 1. Immunoreactivity for minichromosome maintenance (MCM7) in low-grade papillary urothelial carcinoma (Expression group a, x200).

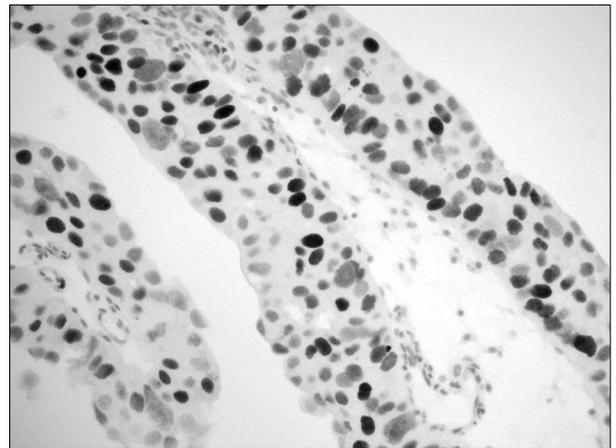


Fig. 2. Immunoreactivity for minichromosome maintenance (MCM7) in high-grade papillary urothelial carcinoma (Expression group e, x200).

Table 1. Relationship of the minichromosome maintenance (MCM7) expression with the histological grade and stage

Expression rate*	Grade [†] (p<0.0001 [‡]) (%)			Stage (p=0.208 [‡]) (%)		
	LMP	Low	High	Ta	T1	T2-T3
a	3 (100.0)	8 (30.8)	1 (5.6)	8 (33.3)	4 (22.2)	
b	0 (.0)	11 (42.3)	3 (16.7)	7 (29.2)	6 (33.3)	1 (20.0)
c		6 (23.1)	3 (16.7)	4 (16.7)	5 (27.8)	
d		1 (3.8)	6 (33.3)	3 (12.5)	2 (11.1)	2 (40.0)
e			5 (27.8)	2 (8.3)	1 (6.7)	2 (40.0)
Total	3	26	18	24	18	5

*a: 0-20%, b: 21-40%, c: 41-60%, d: 61-80%, e: 81-100%. [†]LMP: papillary urothelial neoplasm of low malignant potential, Low: papillary urothelial carcinoma, low-grade, High: papillary urothelial carcinoma, high-grade. [‡]p-value by chi-square test for trend

2. Ki-67 양성률과 조직학적 등급 및 병기와의 관계

Ki-67에 대한 면역염색 결과 저등급 요로상피종양에서는 a군이 가장 많았고 고등급 종양에서는 b군이 가장 흔하게 나타나서 통계학적으로 유의한 차이를 보였다 (p=0.002). MCM7 단백과 달리 Ki-67은 양성률이 가장 높은 e군은 한 예도 없었다. 또한 병기가 높아짐에 따라 Ki-67의 양성률도 높아지는 양상이 관찰되었고 이는 통계학적으로 유의하였다 (p=0.011, Table 2).

3. 재발률 분석

총 47례 중 17례 (36.2%)가 최초 진단 후 평균 15.5개월 (3-35)에 재발하였다. 환자의 성별, 나이, 조직학적 등급, 병기, 종양의 크기, 다발성 여부 및 Ki-67 발현과 MCM7 발현

등을 가능성 있는 재발예측인자로 추정하고 다변량 COX 회귀분석을 시행한 결과 Ki-67과 MCM7 모두 통계학적으로 유의한 관계는 나타나지 않았고 T2, T3의 높은 병기가 재발과 관련이 있는 것으로 나타났다 (p=0.033) (Table 3).

고찰

요로상피암은 방광에서 발생하는 암의 90% 이상을 차지하는데 이 중 약 75%가 점막에 국한되어 있는 표재성 종양인 Ta와 T1 병기에 발견된다. 이러한 표재성 요로상피암은 경요도절제술을 통하여 비교적 어렵지 않게 제거할 수 있다. 그러나 약 50-76.7%라는 많은 수가 재발하며¹¹⁻¹³ 10-15%에서는 침윤성 암으로 진행되는 것으로 알려져 있고 42%가 10년 내에 더 높은 등급이나 병기로 진행한다는 보

Table 2. Relationship of the Ki-67 expression with the histological grade and stage

Expression rate*	Grade [†] (p=0.002 [†]) (%)			Stage (p=0.011 [†]) (%)		
	LMP	Low	High	Ta	T1	T2-T3
a	3 (100.0)	21 (80.8)	3 (16.7)	14 (58.3)	13 (72.1)	
b		4 (15.4)	8 (44.4)	8 (33.3)	2 (11.1)	2 (40.0)
c		1 (3.8)	5 (27.8)	1 (4.2)	2 (11.1)	3 (60.0)
d			2 (11.1)	1 (4.2)	1 (5.6)	
e						
Total	3	26	18	24	18	5

*a: 0-20%, b: 21-40%, c: 41-60%, d: 61-80%, e: 81-100%. [†]LMP: papillary urothelial neoplasm of low malignant potential, Low: papillary urothelial carcinoma, low-grade, High: papillary urothelial carcinoma, high-grade. [†]p-value by chi-square test for trend

Table 3. Multivariate COX regression analysis on the contribution of various factors for the prediction of recurrence

Variable	RR	95% CI	p-value
Gender (male vs. female)	2.098	0.318-13.828	0.441
Age (≤66 years vs. >66 years [median])	1.096	0.969-1.240	0.146
Histologic grade*	-	-	0.825
LMP	1	-	-
Low grade	1.720	0.044-67.443	0.772
High grade	1.933	0.241-15.505	0.535
Stage	-	-	0.101
Ta	1	-	-
T1	0.079	0.004-1.433	0.086
T2, T3	0.041	0.002-0.774	0.033
Tumor size	1.244	0.231-6.688	0.799
Multifocality	0.843	0.178-30.995	0.829
MCM7 (≤20% vs. >20%)	1.259	0.101-15.741	0.858
Ki-67 (≤20% vs. >20%)	0.402	0.049-3.296	0.396

RR: relative risk, CI: confidence interval. *LMP: papillary urothelial neoplasm of low malignant potential, Low grade: papillary urothelial carcinoma, low-grade, High grade: papillary urothelial carcinoma, high-grade

고도 있다.¹¹ 방광암의 예후를 예측하기 위하여 종양의 조직학적 등급과 병기가 널리 사용되고 있으나 이들은 환자 개개인의 재발이나 진행 가능성을 예측하지는 못하는 실정이다. 동일한 등급과 병기 내에서 좀 더 세밀하고 개별화된 예측 방법을 사용할 수 있다면 방광암 환자의 치료와 관리에 있어서 훨씬 다양한 접근이 가능할 것이다. 이러한 점에 주목하여 최근에는 분자생물학적 표지자를 이용하여 각 증례 고유의 생물학적 특징을 알아내고자 하는 다양한 연구와 시도들이 이루어지고 있으며 MCM 단백질에 관한 연구도 이들 중 하나이다.

MCM 단백질은 세포증식 과정 중 핵산의 복제 단계에 핵심적인 조절인자로서¹⁴ 세포주기의 전 과정에 걸쳐 풍부하게 발현되다가 세포가 주기를 빠져나간 휴지세포와 노화 및 분화 세포에서는 나타나지 않는 특징을 갖는다.¹⁵ 또한 DNA 복제가 각 세포주기 동안 단 한 번만 일어나도록 하는 중요한 역할을 하기도 한다.¹⁴ MCM2-7 복합체를 이루는 단위 단백질들이 각각 고유의 기능을 할 것으로 추정되고는 있으나 아직 그 역할이 확실히 밝혀져 있지는 않다. 다만 몇몇 연구에서 MCM4/6/7이 DNA helicase로 작용하는 반면 MCM2 및 MCM3/5는 이들 기능을 방해한다는 결과를 발표하였는데⁸ 이들이 인체에서도 같은 기능을 하는지는 알려지지 않고 있다. 정상 및 악성 조직을 이용하여 MCM2와 MCM5의 발현을 조사한 연구들에 의하면 이들이 세포주 및 실제 환자의 조직과 세포 표본에서도 공히 세포 증식의 지표로서 유용하다고 하였다.^{2,16,17} 세포의 증식 상태가 악성 종양의 성장속도와 예후 및 항암치료에 대한 반응을 예측하는 데 있어서 중요한 인자라고 할 때 종양 세포들의 세포 증식 상태에 대한 정확한 평가는 환자 개개인의 임상경과 추정에 있어서 훌륭한 정보가 될 수 있을 것이다.¹⁸

본 연구에서 사용한 MCM7 단백질의 발현은 MCM2, 3, 5를 이용한 Korkolopoulou 등⁹ 및 Kruger 등⁸의 연구와 마찬가지로 방광암의 조직학적 등급과 통계학적으로 유의한 상관관계를 보였다. 즉 저등급에서보다 고등급 요로상피암일 때 더 높은 양성률을 보임으로써 조직학적 등급이 높은 종양에서는 더 활발한 세포 증식이 이루어지고 있음을 나타냈다. 이러한 결과를 이용한다면 주로 저등급과 고등급으로 분류가 이루어지는 WHO/ISUP의 방광암 분류법에 종양의 세포 증식 상태에 관한 평가를 보완함으로써 종양에 관한 좀 더 많은 정보를 제공할 수도 있을 것으로 생각한다. Ki-67 양성률도 역시 조직학적 등급과 밀접한 상관관계를 보여 종래의 연구와 같은 결과를 보였다.

Ki-67의 양성률은 병기가 증가함에 따라 같이 증가하는 유의한 차이를 보였으나 MCM7 단백질 발현의 병기에 따른 변화는 통계학적으로 유의하지 않았다. Ki-67과 병기와의

관계에 대해서는 본 연구에서처럼 병기의 변화에 따라 Ki-67의 발현이 유의한 차이를 보인다는 보고와 서로 관련이 없다는 상반되는 연구 결과를 모두 찾아볼 수 있다.^{19,20} 또한 MCM2와 MCM5 단백을 이용한 Korkolopoulou 등⁹의 보고에서는 T3과 T4 종양에서 이들 MCM 단백질의 발현율이 더 높게 나타나는 차이를 보였다고 하였다.

MCM 단백질과 Ki-67의 전반적인 발현 양상을 비교해 보았을 때 대부분의 경우 같은 증례에서 MCM7보다 Ki-67의 발현이 낮게 나타났으며 양성률 81% 이상인 e군이 MCM7 염색에서는 5례였던 반면 Ki-67의 경우는 한 예도 없었다. 이는 Ki-67이 세포주기 G0에서 G1으로 넘어가는 초기 G1기의 세포들을 검출해내지 못하는 점과²¹ 악성 종양에서 국소적으로 나타나는 세포의 영양결핍 상태에서 발현율이 저하되는 점에²² 원인이 있는 것으로 판단하였다. 이와 달리 MCM 단백질은 세포주기 전 과정에서 나타나므로 종양 내에서 급격히 변화하는 증식세포군을 평가하는 데 있어서 Ki-67보다 좀 더 예민하고 신뢰할 만한 도구가 될 수 있을 것으로 생각하였다. 자궁내막암종, 전립선암종, 신세포암종 등의 악성종양을 대상으로 한 연구에서도 MCM 단백질이 Ki-67보다 우수한 생물학적 지표가 될 수 있음을 보고한 바 있다.^{4,22,23}

환자의 연령이 무병생존율에 영향을 미친다는 보고들이^{9,24} 있는데 본 연구에서도 환자 평균연령인 66세보다 낮은 연령군에서는 26.3%가 재발을 보인 반면 66세 이상인 군에서는 42.9%에서 재발하는 차이를 보였으나 통계학적인 유의성은 없었다. 연령 외에도 성별, 조직학적 등급, 병기, 종양의 크기, 다발성 여부 및 Ki-67 양성률과 MCM7 양성률이 재발에 미치는 영향을 변수로 하여 다변량 분석을 시행하였을 때 병기만이 재발과 관련한 인자인 것으로 나타났다. 방광암의 재발과 관련한 연구들을 살펴보면 조직학적 등급이 재발을 예측하는 데 유용한 인자라는 보고¹²와 그렇지 않다는 보고^{19,25}가 있고 병기²⁵와 Ki-67 발현율^{19,25} 및 MCM 단백질 발현율^{4,8,9} 등에 대해서도 서로 다른 결과들을 보여주고 있다. 이는 방광암이 여타 악성종양에 비하여 비교적 다양한 양상을 보이는 이질적인 종양군인 것에 비하여 각각의 연구들에 사용된 연구대상과 방법들이 상이하였기 때문일 것으로 추정되며 새로운 세포증식 표지자인 MCM 단백질에 관하여서도 향후 더 많은 연구들을 통하여 그 임상적 가치를 정립해야 할 것으로 생각한다.

결 론

MCM7 단백질은 방광암의 조직학적 등급이 높아질수록 더 높은 발현율을 보였으며 Ki-67의 단점을 보완한 새로운 세

포증식 표지자로서의 가능성을 보여주었다. 다변량 통계분석에서는 병기만이 방광암의 재발을 예측할 수 있는 독립적인 예후인자로 나타났다.

REFERENCES

- Lipponen PK, Eskelinen MJ, Nordling S. Progression and survival in transitional cell bladder cancer: a comparison of established prognostic factors. S-phase fraction and DNA ploidy. *Eur J Cancer* 1991;27:877-81
- Freeman A, Morris LS, Mills AD, Stoeber K, Laskey RA, Williams GH, et al. Minichromosome maintenance proteins as biological markers of dysplasia and malignancy. *Clin Cancer Res* 1999;5:2121-32
- Yu Z, Feng D, Liang C. Pairwise interactions of the six human MCM protein subunits. *J Mol Biol* 2004;340:1197-206
- Padmanabhan V, Callas P, Philips G, Traniner TD, Beatty BG. DNA replication regulation protein MCM7 as a marker of proliferation in prostate cancer. *J Clin Pathol* 2004;57:1057-62
- Tachibana KK, Gonzalez MA, Coleman N. Cell-cycle-dependent regulation of DNA replication and its relevance to cancer pathology. *J Pathol* 2005;205:123-9
- Ha SA, Shin SM, Namkoong H, Lee H, Cho GW, Hur SY, et al. Cancer-associated expression of minichromosome maintenance 3 gene in several human cancers and its involvement in tumorigenesis. *Clin Cancer Res* 2004;10:8386-95
- Sakwe AM, Nguyen T, Athanasopoulos V, Shire K, Frappier L. Identification and characterization of a novel component of the human minichromosome maintenance complex. *Mol Cell Biol* 2007;27:3044-55
- Kruger S, Thorns C, Stocker W, Muller-Kunert E, Bohle A, Feller AC. Prognostic value of MCM2 immunoreactivity in stage T1 transitional cell carcinoma of the bladder. *Eur Urol* 2003;43:138-45
- Korkolopoulou P, Givalos N, Saetta A, Goudopoulou A, Gakiopoulou H, Thymara I, et al. Minichromosome maintenance proteins 2 and 5 expression in muscle-invasive urothelial cancer: a multivariate survival study including proliferation markers and cell cycle regulators. *Hum Pathol* 2005;36:899-907
- Kuczyk MA, Serth J, Hervatin C, Arndt H, Derendorf L, Thon WF, et al. Detection of p53 tumor-suppressor-gene protein in bladder tumors and prostate cancer: possible clinical implications. *World J Urol* 1994;12:345-51
- Herr HW. Natural history of superficial bladder tumors: 10-to 20-year follow-up of treated patients. *World J Urol* 1997;15:84-8
- Pich A, Chiusa L, Formiconi A, Galliano D, Bortolin P, Navone R. Biologic differences between noninvasive papillary urothelial neoplasms of low malignant potential and low-grade (grade1) papillary carcinomas of the bladder. *Am J Surg Pathol* 2001;25:1528-33
- Mariappan P, Smith G. A surveillance schedule for G1Ta bladder cancer allowing efficient use of check cystoscopy and safe discharge at 5 years based on a 25-year prospective database. *J Urol* 2005;173:1108-11
- Takisawa H, Mimura S, Kubota Y. Eukaryotic DNA replication: from pre-replication complex to initiation complex. *Curr Opin Cell Biol* 2000;12:690-6
- Musahl C, Holthoff HP, Lesch R, Knippers R. Stability of the replicative Mcm3 protein in proliferating and differentiating human cells. *Exp Cell Res* 1998;241:260-4
- Todorov IT, Werness BA, Wang HQ, Buddharaju LN, Todorova PD, Slocum HK, et al. HsMCM2/BM28: a novel proliferation marker for human tumors and normal tissues. *Lab Invest* 1998;78:73-8
- Meng MV, Grossfeld GD, Williams GH, Dilworth S, Stoeber K, Mulley TW, et al. Minichromosome maintenance protein 2 expression in prostate: characterization and association with outcome after therapy for cancer. *Clin Cancer Res* 2001;7:2712-8
- Tsujihashi H, Nakanishi A, Matsuda H. Cell proliferation of human bladder tumors determined by BrdU and Ki-67 immunostaining. *J Urol* 1991;145:846-9
- Yurakh AO, Ramos D, Calabuig-Farinas S, Lopez-Guerrero JA, Rubio J, Solsona E, et al. Molecular and immunohistochemical analysis of the prognostic value of cell-cycle regulators in urothelial neoplasms of the bladder. *Eur Urol* 2006;50:506-15
- Tsuji M, Kojima K, Murakami Y, Kanayama H, Kagawa S. Prognostic value of Ki-67 antigen and p53 protein in urinary bladder cancer: immunohistochemical analysis of radical cystectomy specimens. *Br J Urol* 1997;79:367-72
- Nocito A, Bubendorf L, Tinner EM, Suess K, Wagner U, Forster T, et al. Microarrays of bladder cancer tissue are highly representative of proliferation index and histological grade. *J Pathol* 2001;194:349-57
- Li SS, Xue WC, Khoo US, Ngan HY, Chan KY, Tam IY, et al. Replicative MCM7 protein as a proliferation marker in endometrial carcinoma: a tissue microarray and clinicopathological analysis. *Histopathology* 2005;46:307-13
- Rodins K, Cheale M, Coleman N, Fox SB. Minichromosome maintenance protein 2 expression in normal kidney and renal cell carcinomas: relationship to tumor dormancy and potential clinical utility. *Clin Cancer Res* 2002;8:1075-81
- Oosterhuis JW, Schapers RF, Janssen-Heijnen ML, Smeets AW, Pauwels RP. MIB-1 as a proliferative marker in transitional cell carcinoma of the bladder: clinical significance and comparison with other prognostic factors. *Cancer* 2000;88:2598-605
- Bailis JM, Forsburg SL. MCM proteins: DNA damage, mutagenesis and repair. *Curr Opin Genet Dev* 2004;14:17-21