

上部尿路上皮癌におけるプラキンファミリー蛋白発現の検討

¹⁾ 東京慈恵会医科大学泌尿器科学講座, ²⁾ 東京慈恵会医科大学総合医科学研究センター悪性腫瘍治療研究部,

³⁾ 東京慈恵会医科大学病院病理部

長谷川雄一¹⁾ 鎌田 裕子²⁾ 萬 昂士³⁾ 鷹橋 浩幸³⁾
木村 高弘¹⁾ 車 英俊¹⁾ 田畑 龍治¹⁾ 下村 達也¹⁾
山田 裕紀¹⁾ 佐々木 裕¹⁾ 穎川 晋¹⁾

要旨:

(目的) 本研究は上部尿路癌におけるペリプラキンおよび他のプラキンファミリー蛋白の発現変化を検討し、臨床病理学的因子との関係を解明することを目的とした。

(対象と方法) 2000年4月から2005年12月に、東京慈恵会医科大学泌尿器科にて手術を受けた上部尿路上皮癌(腎盂癌および尿管癌)患者57名を対象とした。癌部および非癌部におけるペリプラキン、エンボプラキン、プレクチン、デスマプラキンの発現を免疫組織染色にて解析し、臨床像と比較検討した。

(結果) 上部尿路癌組織におけるペリプラキン発現は、正常尿路上皮に比べ、強陽性を示す割合は有意に低下していた($P<0.0001$)。またエンボプラキンおよびデスマプラキンの発現も、強陽性を示す割合は癌部で有意に低下していた(それぞれ $P<0.0001$)。カプラン・マイヤー法およびログランク検定を用いた検討では、ペリプラキンとエンボプラキンの発現は予後と有意な相関を認めなかったが、デスマプラキンの強発現は癌特異生存率および全生存率が有意に低く($P=0.023$ および 0.034)、プレクチンの強発現は非転移生存率が有意に低かった($P=0.034$)。

(結論) 上部尿路上皮癌において、プラキンファミリー、特にデスマプラキンは予後予測マーカーとなる可能性が示唆された。

(日泌尿会誌 108(2): 87~95, 2017)

キーワード: プラキンファミリー, 尿路上皮癌, 上部尿路

緒 言

尿路上皮癌は腎盂・尿管に発生する上部尿路癌と膀胱癌に大別される。上部尿路癌は膀胱癌に比べ診断が困難であることから予後不良であり、また症例数が少ないことから、多症例を検討した前向き試験は限られ、進行症例におけるリンパ節郭清や術後補助化学療法の有効性に関する明確なエビデンスは存在しない。尿路上皮癌のスクリーニングには尿細胞診が最も簡便な方法として用いられるが、その鋭敏度は低く40~60%とされる¹⁾。近年ではNuclear Matrix Protein 22 (NMP22)やBladder Tumor Antigen test (BTA test)が新規マーカーとして保険適応となっているが、これらの鋭敏度は、NMP22で32~92%、BTA testでは53~89%、また特異度はNMP22で51~94%、BTAで53~89%と報告され、その有効性は限られているとともに、予後との関連性は明らかではない²⁾。一方、尿路上皮癌の発癌および癌進展に関する分

子メカニズムは未だ明らかではなく、尿路上皮癌における癌関連分子の解明は癌の診断および予後予測だけではなく新規治療法の開発のためにも重要な課題である。

これまでに、高分子量プロテオミクス解析により膀胱癌でプラキンファミリータンパクの発現が低下することが発見され³⁾、さらにプラキンファミリーの中のペリプラキン(periplakin)の発現が膀胱癌の病理学的進行度および癌特異生存率と有意に相関することが報告された⁴⁾。ペリプラキンは195kDaの膜結合蛋白で、角化細胞のケラチンフィラメントやデスモソームに存在する角化膜の構成要素であり、角化細胞の細胞内接着や表皮などの保全・維持に重要な役割を果たしていると考えられている⁵⁾⁶⁾。プラキンファミリーには他に、デスマプラキン(desmoplakin)、プレクチン(plectin)、エンボプラキン(envoplakin)があり、これらも細胞骨格要素や細胞接着複合体の生成に関係している細胞骨格リンカー蛋白質である⁷⁾⁸⁾。ペリプラキンは、尿路上皮以外にも乳腺や胃粘

受付日: 2016年5月20日, 受理日: 2016年11月22日

長谷川雄一: 東京慈恵会医科大学泌尿器科学講座〔〒105-8461 東京都港区西新橋3丁目25番8号〕

E-mail: ul.hasegawa@jikei.ac.jp

© 2017 The Japanese Urological Association

膜上皮など様々な臓器で発現する蛋白であるが、近年その分子細胞学的機能や他のブラキンファミリー蛋白との相互作用が解明されつつある^{5)6)8)~11)}。悪性腫瘍における研究としては、食道扁平上皮癌において、ペリブラキンの発現が有意に低下することが報告されている¹²⁾¹³⁾。泌尿生殖器癌においても、前述のように膀胱癌における発現の低下が報告されている⁴⁾。細胞接着因子の発現低下と癌の進行、転移の関連性に関する報告は多いが¹⁴⁾、ペリブラキンの発現と発癌におけるメカニズムは未だ明らかにされていない⁴⁾。また、より診断が困難である上部尿路上皮癌におけるブラキンファミリー蛋白の発現は未だ解明されていない。

本研究は、上部尿路癌におけるブラキンファミリー蛋白の発現変化を検討し、臨床病理学的因子との関係を解明することを目的とした。

対象・方法

対象患者

2000年4月から2005年12月に東京慈恵会医科大学附属病院において手術を受けた非転移性上部尿路上皮癌（腎盂癌および尿管癌）患者57名を対象とした。病理組織学的腫瘍の分類はWHO分類および2002年TNM分類を用いた。術後患者は3~6カ月毎の膀胱鏡検査、胸部腹部Computed Tomography (CT) および尿細胞診検査にて経過観察を行った。画像または膀胱鏡検査にて、局所または膀胱への新病変出現を再発、遠隔臓器への新病変出現を転移と定義した。本研究は東京慈恵会医科大学倫理委員会の承認を受け、すべての患者より文書によるインフォームドコンセントを得て、「ヘルシンキ宣言」に則り行われた。

上部尿路癌の治療

非転移性上部尿路癌に対する治療は、手術療法を基本とし、全例に腎尿管全摘膀胱部分切除術が施行された。手術は腰部斜切開による開腹手術または腹腔鏡下手術を行い、膀胱部分切除は開腹にて施行された。リンパ節郭清は原則的に行われず、画像上転移が疑われた症例にのみ施行された。術後補助化学療法は原則的に摘出検体の病理がpT3以上またはリンパ節転移を認めた症例に行われた。化学療法はメソトレキセート、ビンブラスチン、アドリアマイシンおよびシスプラチンによるMVAC療法を原則としているが、慢性腎不全による血液透析患者1例でシスプラチン単独療法がおこなわれた。

免疫組織化学

各蛋白の発現は、手術検体の癌および正常組織を用いた免疫組織化学染色により解析した。各組織のホルマリン固定パラフィン包埋切片はキシレンおよび無水エタノールにて脱パラフィン化した。抗原賦活化はペリブラキン、プレクチンおよびデスモブラキンは10mM クエン酸バッファーで、エンボブラキンは高pH antigen retrieval solution (Dako Japan, Tokyo, Japan) を用いて

オートクレーブ (121℃, 15 分間) により行った。切片を冷却したのち 3% 過酸化水素水 (20 分) により内因性ペルオキシダーゼの不活化を行った。ブロッキングは 10% 豚血清にて室温 30 分行った。一次抗体反応は goat ポリクローナル抗ペリブラキン抗体 (1:400, Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA, USA)、マウスモノクローナル抗エンボブラキン抗体 (1:100, Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA, USA)、マウスモノクローナル抗デスモブラキン抗体 (1:200, Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA, USA) または goat ポリクローナル抗プレクチン抗体 (1:200, Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA, USA) にて 4℃ 一晚反応させた。PBS にて洗浄後、ペリブラキンは Histofine Simple Stain MAX PO (Goat) kit (Nichirei, Tokyo, Japan) にて、エンボブラキン、プレクチン、デスモブラキン染色は Histofine Simple Stain MAX PO (MULTI) kit (Nichirei, Tokyo, Japan) にて 2 次抗体反応を行った。発色はジアミノベンジジン反応に、対比染色は May's ヘマトキシリンにより施行された。各蛋白の発現は臨床情報が伏せられた状態で 1 名の病理医が評価した。蛋白発現の評価は松本らの方法で行った⁴⁾。無作為に選んだ弱拡大 1 視野中で蛋白を発現している領域において、発現の強度および陽性細胞の割合を 0 点 (0%), 1 点 (1~33%), 2 点 (34~66%), 3 点 (67~100%) と点数化し、それぞれの点を合計し、0 点を陰性 (loss), 1~3 点を弱陽性 (slight), 4~6 点を強陽性 (strong) と定義した。

統計

ブラキンファミリー蛋白の発現と臨床病理学的因子との関連性はマン・ホイットニーの U 検定または One way ANOVA を用いて検討した。ブラキンファミリー蛋白質の発現と非再発生存率、非転移生存率、癌特異生存率および全生存率はカプラン・マイヤー法およびログランク検定を用いて検討した。多変量解析は Cox-proportional hazard model を用いて行った。P 値は 0.05 未満を有意であると定義した。

結 果

患者背景

患者背景を Table 1 に示す。年齢中央値は 66 歳 (範囲: 35~84 歳)、男女比は 45:12 であった。全症例病理学的に尿路上皮癌と診断されたが、2 例で扁平上皮癌の混在が認められ、1 例で腎細胞癌の併発が診断された。免疫組織染色は尿路上皮癌の部位を癌部として検討した。癌の部位は、腎盂癌が 30 例 (52.6%)、尿管癌が 26 例 (45.6%)、全尿路癌が 1 例 (1.8%) であった。腫瘍の形状は乳頭状腫瘍が 44 例 (77.2%)、非乳頭状腫瘍が 13 例 (22.8%) であった。悪性度は grade 1 が 13 例 (22.8%)、grade 2 が 26 例 (45.6%)、grade 3 が 18 例 (31.6%) であった。病理学的進行度は表在が (pTis, pTa および pT1) が 18 例 (31.6%)、筋層浸潤癌 (pT2 以上) が 39

Table 1 Patients characteristics

		No. of cases
total		57
age	median (range)	66 (35-84)
sex	male	45
	female	12
pathological diagnosis	UC	54
	UC>SCC	2
	UC+RCC	1
localization	pelvis	30
	ureter	26
	total	1
shape	papillary	44
	non-papillary	13
grade	1	13
	2	26
	3	18
pT stage	a	4
	is	1
	1	13
	2	4
	3	34
	4	1
adjuvant chemotherapy	Yes	16
	No	41

UC: urothelial carcinoma

RCC: renal cell carcinoma

SCC: squamous cell carcinoma

例 (68.4%) であった。リンパ節郭清は 10 例に行われ、うち 4 例 (40.0%) に転移を認めた。術後補助化学療法は 16 例 (28.1%) に行われた。観察期間中央値は 54 カ月 (1~156 カ月) であった。

ブラキシンファミリー蛋白の発現

癌部および非癌部におけるブラキシンファミリー蛋白の発現を免疫組織化学法にて検討した。代表的な染色像を Fig. 1 に示す。ペリブラキン、エンボブラキンおよびプレクチンは細胞膜に発現し、癌部と非癌部での発現様式に明らかな差は認められなかった。デスモブラキンも癌部、非癌部ともに細胞膜で発現していたが、癌部においては扁平上皮への分化を伴う部位に強い傾向が観察された (Fig. 1k)。癌部は全症例にて検討可能であったが、非癌部は病理学的に正常粘膜組織の同定が可能であった 35 例で検討を行った。癌部、非癌部ともにブラキシンファミリー蛋白の発現が陰性であった症例が少なかったため、陰性または弱陽性群 (loss+slight) と強陽性群 (strong) における臨床病理学的因子を比較した。

ペリブラキンの強陽性症例は、非癌部で 82.9%、癌部で 22.8%、エンボブラキンの強陽性症例は、非癌部で 97.1%、癌部で 42.1%、デスモブラキンの強陽性症例は、非癌部で 91.4%、癌部で 43.9% であり、それぞれ非癌部に比べ癌部で有意に発現が低下していた (各 $P < 0.0001$)。一方でプレクチンの発現は非癌部と癌部で有意

な差を認めなかった ($P = 0.586$)。ブラキシンファミリー蛋白の発現は、性別、病理学的悪性度 (grade)、病理学的進行度 (pT stage)、病理学的リンパ節転移の有無 (pN stage) で有意な相関は認めなかった (Table 2)。

癌部における各蛋白発現と患者予後 (非再発生存率、非転移生存率、癌特異生存率および全生存率) について、カプラン・マイヤー法およびログランク検定を用いて検討した (Fig. 2~5)。ペリブラキン、エンボブラキンに関しては、蛋白発現と患者予後に統計学的有意な相関を認めなかった。一方、プレクチン強陽性群は非転移生存率 ($P = 0.034$, Fig. 3) が有意に低く、デスモブラキン強陽性群は癌特異生存率および全生存率が有意に低下していた ($P = 0.023$, Fig. 4 および 0.034 , Fig. 5)。

さらに、癌特異生存率に対するブラキシンファミリー蛋白の発現および臨床病理学的因子との関連について、単変量および多変量解析を行った (Table 3)。単変量解析においては、デスモブラキン、腫瘍の形状 (non-papillary)、リンパ管侵襲 (pL)、静脈侵襲 (pV) およびリンパ節転移 (N1) において有意に関連を認めた。多変量解析においては、有意な予測因子となるものはなかったが、リンパ節転移 (N1) は統計学的有意差を認めないものの、予後と相関する傾向を認めた ($P = 0.053$)。デスモブラキン以外のブラキシンファミリー蛋白の発現は有意な予後相関因子ではなかった。

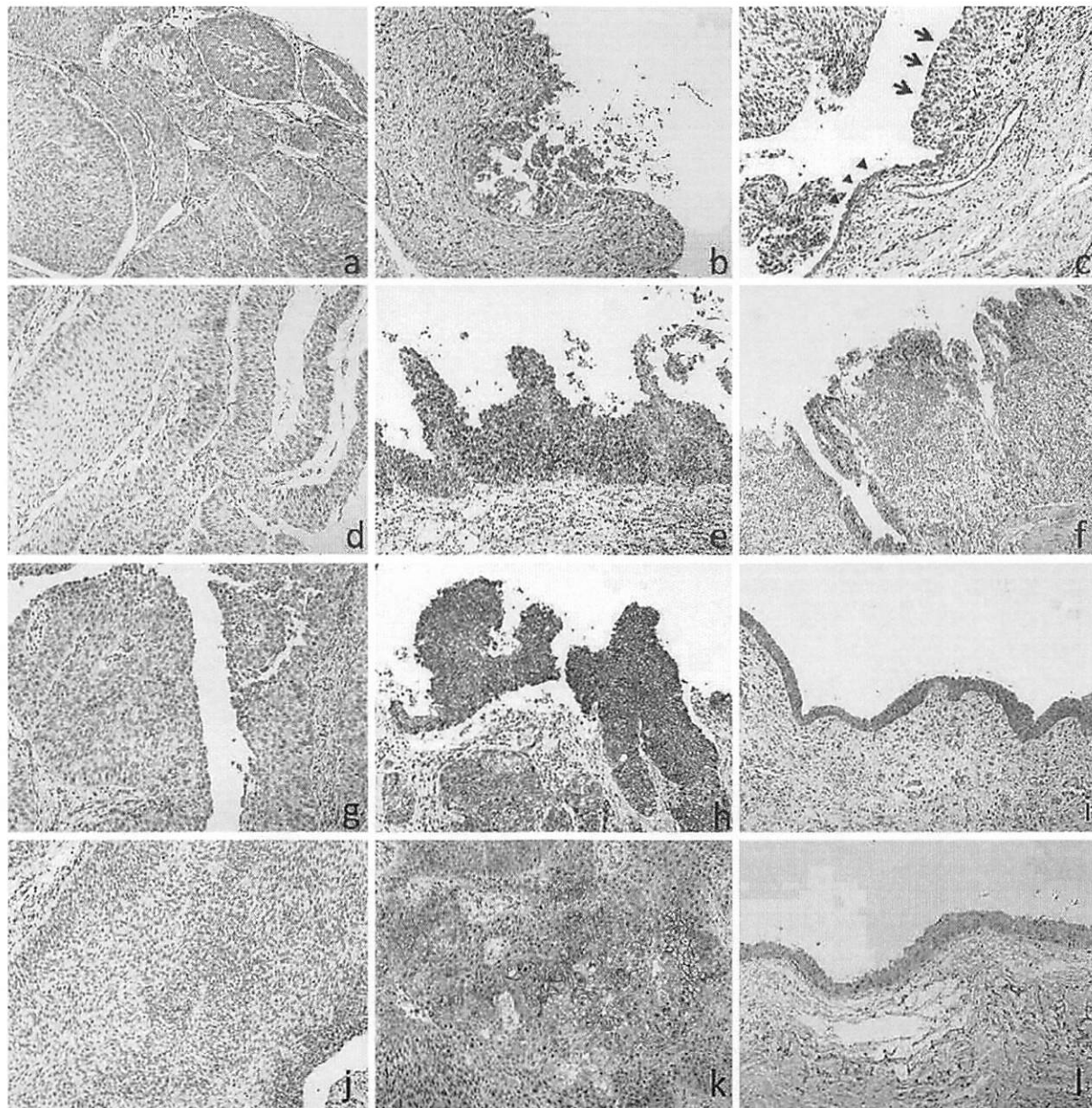
考 察

プロテオミクス解析は、蛋白の翻訳後修飾など従来の遺伝子解析では解析が困難であった遺伝子レベルで変化を認めない病態の解明に有効であるとされ、これまでにわれわれは、前立腺癌検体を用いたプロテオミクス解析により新規バイオマーカー Staphylococcal nuclease domain-containing protein 1 を発見し、その病理学的悪性度との関連性を報告している¹⁵⁾。同手法を用いて、新規膀胱癌バイオマーカーペリブラキンが発見され、膀胱癌検体における発現の低下と予後との相関性について報告された³⁴⁾。

本研究では膀胱癌よりも診断が困難であり予後不良とされる上部尿路上皮癌におけるブラキシンファミリー蛋白の発現を検討した。結果、ペリブラキンだけではなく、同じブラキシンファミリー蛋白のエンボブラキンおよびデスモブラキンに関しても上部尿路上皮癌において有意に発現が低下していた。ペリブラキンと他の悪性疾患の関連に関しては、食道扁平上皮癌および膀胱癌で癌部において発現が低下していると報告されている。また、デスモブラキンは転移性咽頭癌で発現が低下しているという報告^{16)~18)}があるが、乳癌においては癌部における高発現が術後再発と相関するという報告もある¹⁹⁾。一方、プレクチンは膀胱癌²⁰⁾²¹⁾、頭頸部扁平上皮癌²²⁾で発現が亢進していると報告されている。エンボブラキンと癌の関係に関しては本研究が初めての報告である⁴⁾¹²⁾¹³⁾。

Fig. 1 Immunohistochemical expression of plakin family proteins in urothelial carcinoma and non-cancerous epithelium of the upper urinary tract.

Periplakin expression in cancer (a: slight, b: strong, c: loss (\uparrow)) and non-cancerous epithelium (c: strong (\blacktriangledown)). Envoplakin expression in cancer (d: slight, e: strong) and non-cancerous epithelium (f: strong). Plectin expression in cancer (g: slight, h: strong) and non-cancerous epithelium (i: strong). Desmoplakin expression in cancer (j: slight, k: strong) and non-cancerous epithelium (l: strong). Strong expression of desmoplakin was observed particularly in cancerous area with squamous metaplasia.



ペリプラキンを含むプラキンファミリーは、細胞接着を担うデスモゾームにおける細胞骨格リンカー蛋白質として報告され、皮膚および組織間の接着に重要な役割を果たしていると考えられている⁵⁾⁸⁾。尿路上皮癌に関しては、これまでに E-cadherin などの細胞接着因子の発現低下と癌の進展および転移との関連性¹⁴⁾、膀胱癌におけるペリプラキンの発現低下が病理学的進行度および癌特異生存率と有意な相関を認めたとの報告がある¹⁾。

一方で上部尿路癌を対象とした本研究では、ペリプラキンの発現は正常尿路上皮に比べ癌部での有意な発現低

下を認めたが、癌の悪性度、進行度および予後との有意な関連性は認められなかった。その理由として、症例数が少ないこと、膀胱癌に比べ上部尿路上皮癌は進行症例が多く予後不良であり、他の臨床病理学的因子が予後と強く関連している可能性が挙げられる。実際 Matsumoto らの膀胱癌における検討では 92 例中 pT3 または 4 の症例が 47 例 (51.1%) であったのに対し、本研究における上部尿路癌では 57 例中 39 例 (68.4%) と患者背景が大きく異なっていた。一方で、本研究では Matsumoto らの論文と同一の抗体を用いて発現を評価したが、Matsumoto

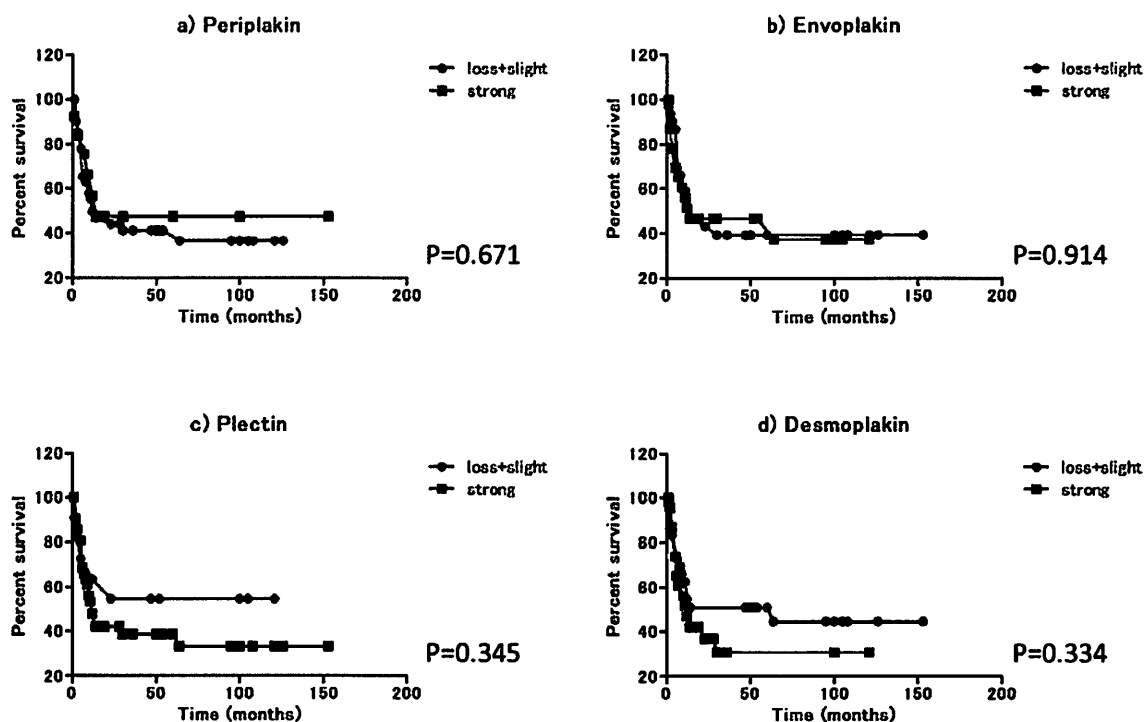
Table 2 Correlation between plakin family protein expression and clinicopathological parameters in urothelial carcinoma of the upper urinary tract

	Periplakin				Envoplakin			Plectin			Desmoplakin		
	No. of cases	loss or slight	strong	p value	loss or slight	strong	p value	loss or slight	strong	p value	loss or slight	strong	p value
tissue													
normal	35	6	29	<0.0001	1	34	<0.0001	5	30	0.586	3	32	<0.0001
cancer	57	44	13		33	24		11	46		32	25	
sex													
female	12	11	1	0.261	9	3	0.208	4	8	0.219	8	4	0.520
male	45	33	12		24	21		7	38		24	21	
grade													
G1	13	9	4	0.466	8	5	1.000	2	11	1.000	10	3	0.117
G2,3	44	35	9		25	19		9	35		22	22	
pT stage													
pTa-1	18	14	4	1.000	8	10	0.248	5	13	0.297	12	6	0.391
pT2-4	39	30	9		25	14		6	33		20	19	
pN stage													
pN0	6	5	1	1.000	3	3	1.000	3	3	0.200	4	2	1.000
pN1	4	3	1		2	2		0	4		3	1	

The evaluation of sex, grade and pT stage was carried out in 57 cases.

The evaluation of pN stage was carried out in ten cases.

Fig. 2 recurrence-free survival rate
a) periplakin, b) envoplakin, c) plectin, d) desmoplakin



らの論文ではペリプラキンは強陽性の症例がなかったのに対し、本論文では強陽性の症例も存在し、ペリプラキンの発現とその役割は膀胱癌と上部尿路癌で異なる可能性も考えられた。未だペリプラキンの発癌および癌の進展に関する分子生物学的作用は解明されていないものの、本研究においても上部尿路癌において癌部で発現が

低下していたことから、ペリプラキンの発現低下は尿路上皮癌における発癌過程で重要な役割を担っていることが示唆された。また同じプラキンファミリーの一員であるエンボプラキンとデスモプラキンに関しても、ペリプラキンと同様に癌部で発現の有意な低下が認められた。前述のようにデスモプラキンに関しては、咽頭癌でも発

Fig. 3 metastasis-free survival rate
a) periplakin, b) envoplakin, c) plectin, d) desmoplakin

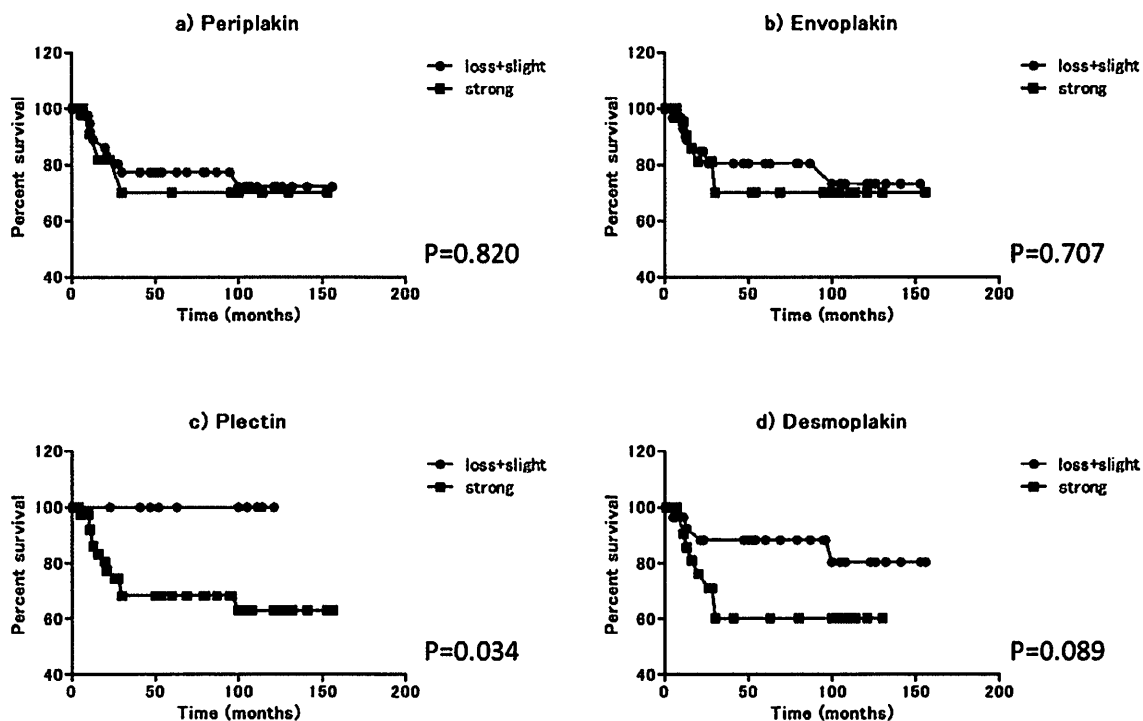
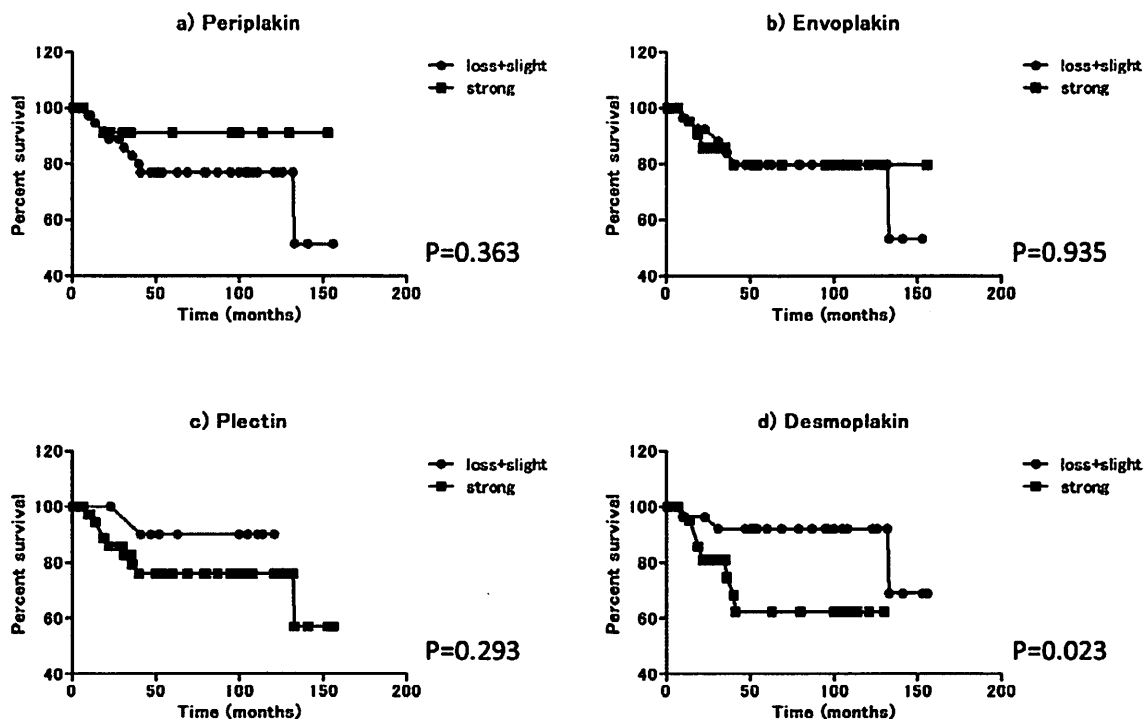


Fig. 4 cancer-specific survival rate
a) periplakin, b) envoplakin, c) plectin, d) desmoplakin



現の低下が報告されており、同様の作用機序が示唆されている^{(16)~(18)}。

また、本研究において最も興味深い結果は、デスモブラキンが上部尿路上皮癌で有意に発現が低下しているにもかかわらず、強陽性群で有意に癌特異生存期間および全生存期間が短縮していた点である。しかしながら、多

変量解析においては、デスモブラキンの発現は有意な相関を認めなかった。これらの結果は同じブラキンファミリーであるペリブラキンは膀胱癌において、発現低下が癌特異生存率と有意に相関しているという結果⁽⁹⁾とも相反するものである。しかし、癌におけるデスモブラキンの発現はいまだ一定の見解は得ておらず、triple negative

Fig. 5 overall survival rate
a) periplakin, b) envoplakin, c) plectin, d) desmoplakin

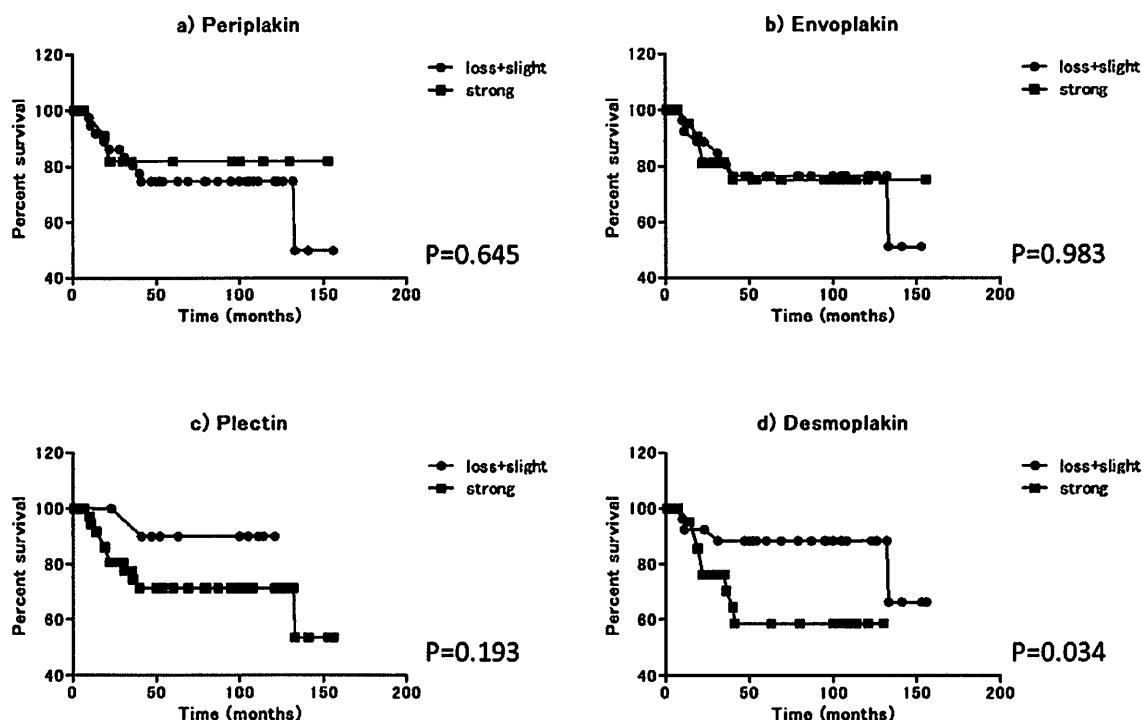


Table 3 Multivariate logistic regression analysis of covariates influencing cancer specific analysis

	Univariate analysis				Multivariate analysis			
	HR	95% CI		p value	HR	95% CI		p value
Periplakin	0.397	0.050	3.142	0.381				
Envoplakin	0.948	0.265	3.391	0.935				
Plectin	2.897	0.362	23.195	0.316				
Desmoplakin	5.138	1.062	24.867	0.042	2.027	0.348	11.815	0.432
age	1.072	0.991	1.160	0.084				
sex	3.480	0.931	13.016	0.064				
location	2.841	0.720	11.208	0.136				
shape	4.918	1.315	18.397	0.018	3.369	0.758	14.970	0.110
grade	1.298	0.275	6.118	0.741				
pT stage	2.460	0.520	11.638	0.256				
pL	5.341	1.368	20.851	0.016	1.539	0.238	9.942	0.650
pV	7.380	1.943	28.030	0.003	4.691	0.691	31.845	0.114
LN status	9.266	1.022	83.999	0.048	16.563	0.962	285.089	0.053
adjuvant chemotherapy	2.674	0.773	9.247	0.120				

HR: Hazard Ratio, CI: confidence interval, pL: pathological lymphatic invasion,

pV: pathological venous invasion, LN: lymph node

乳癌の検討では、癌部における高発現が術後予後不良因子であったと報告されている¹⁹⁾。さらに、前述の Papagerakis らのデスモブラキンと咽頭癌に関する研究では、デスモブラキンの発現は転移を有する咽頭癌で低下する一方で、低分化癌では免疫組織染色で細胞質が染色される局在の変化が観察されている。さらに、デスモブラキンには DSP I と II の 2 つのアイソフォームが存在し、DSP II の mRNA およびタンパクは免疫組織染色で細胞質での発現が観察された症例でのみ認められたとされて

いる¹⁸⁾。本研究においては、デスモブラキンの発現は部位による明らかな局在の変化は観察されなかったものの、癌部では扁平上皮への分化を伴う部位で細胞膜が強く染色される傾向が観察された。今回の研究で用いた抗デスモブラキン抗体は、デスモブラキン I および II 両方のアイソフォームを認識するため、本症例におけるデスモブラキンアイソフォームの優位性は不明である。デスモブラキン発現が癌部で低下する一方で強発現群が予後不良であるという一見相反する結果の原因究明には、アイソ

フォームを含めたさらなる解析が必要であると考えられた。デスモブラキンと尿路上皮癌の関連性に関する報告は本報告が初であり、今後膀胱癌を含む尿路上皮癌における分子生物学的機能の詳細な解析が必要と考えられる。しかし、現時点におけるデスモブラキン発現の上部尿路癌における臨床的意義は不明である。

さらに、本研究ではプレクチンの発現は、癌部、非癌部で有意な差を認めなかったが、強発現群は有意に非転移生存率が低かった。これまでの研究でプレクチンの発現は、膀胱癌および頭頸部扁平上皮癌で亢進しており²⁰⁾²¹⁾²²⁾、頭頸部扁平上皮癌においてはその発現は予後と生存率と逆相関すると報告されている²²⁾。この結果は、今回の研究とも一部一致するものであり、プレクチンの癌における作用は他のブラキンファミリーと異なる可能性が示唆される。

本研究は後ろ向き試験であり、かつ症例数も少ないという明らかな限界が存在する。しかし、観察期間中央値が54カ月と比較的長期であり、上部尿路癌の予後を検討するには十分な期間であると考えられる。ブラキンファミリー、特にデスモブラキンの上部尿路癌における予後予測マーカーとしての有用性を明らかにするために、今後、多症例での検討および分子生物学的検討を行っていく予定である。

結 語

上部尿路上皮癌において、ペリブラキン、エンボブラキンおよびデスモブラキンの発現は有意に低下していた。ペリブラキンとエンボブラキンの発現の有無と病理学的因子および予後との間には明らかな関連は認められなかったが、デスモブラキンを強発現している症例は癌特異生存率および全生存率が有意に低下していた。ブラキンファミリーの上部尿路癌における診断および予後予測マーカーとしての有用性を明らかにするために、今後、多症例での検討が必要と考えられた。

文 献

- 1) Raab SS, Slagel DD, Jensen CS, Teague MW, Savell VH, Ozkutlu D, Lenel JC and Cohen MB: Low-grade transitional cell carcinoma of the urinary bladder: application of select cytologic criteria to improve accuracy. *Mod Pathol*, **9**(3), 225—232, 1996.
- 2) Nguyen CT and Jones JS: Defining the role of NMP 22 in bladder cancer surveillance. *World J Urol*, **26**, 51—58, 2008.
- 3) Okusa H, Koder Y, Oh-Ishi M, Minamida Y, Tsuchida M, Kavoussi N, Matsumoto K, Sato T, Iwamura M, Maeda T and Baba S: Searching for new biomarkers of bladder cancer based on proteomic analysis. *J Electrophoresis*, **52**, 19—24, 2008.
- 4) Matsumoto K, Ikeda M, Sato Y, Kuruma H, Kamata

- Y and Nishimori T: Loss of periplakin expression is associated with pathological stage and cancer-specific survival in patients with urothelial carcinoma of urinary bladder. *Biomed Res*, **35**(3), 201—206, 2014.
- 5) Simon M and Green H: Participation of membrane-associated proteins in the formation of the cross-linked envelope of the keratinocyte. *Cell*, **36**(4), 827—834, 1984.
- 6) Ruhrberg C, Hajibagheri MA, Parry DA and Watt FM: Periplakin, a novel component of cornified envelopes and desmosomes that belongs to the plakin family and forms complexes with envoplakin. *J Cell Biol*, **139**(7), 1835—1849, 1997.
- 7) Sonnenberg A and Liem RK: Plakins in development and disease. *Exp Cell Res*, **313**(10), 2189—2203, 2007.
- 8) Leung CL, Green KJ and Liem RK: Plakins: a family of versatile cytolinker proteins. *Trends Cell Biol*, **12**(1), 37—45, 2002.
- 9) Karashima T and Watt FM: Interaction of periplakin and envoplakin with intermediate filaments. *J Cell Sci*, **115**(Pt 24), 5027—5037, 2002.
- 10) Ruhrberg C, Hajibagheri MA, Simon M, Dooley TP and Watt FM: Envoplakin, a novel precursor of the cornified envelope that has homology to desmoplakin. *J Cell Biol*, **134**(3), 715—729, 1996.
- 11) Boczonadi V, McInroy L and Maatta A: Cytolinker cross-talk: periplakin N-terminus interacts with plectin to regulate keratin organization and epithelial migration. *Exp Cell Res*, **313**(16), 3579—3591, 2007.
- 12) 西森孝典, 朝長 毅, 野村文夫: 消化器扁平上皮癌の分子腫瘍マーカーの検索と蛍光ディフュージョン二次電気泳動. *生物物理化学*, **50**, 187—191, 2006.
- 13) Nishimori T, Tomonaga T, Matsushita K, Oh-ishi M, Koder Y and Maeda T: Proteomic analysis of primary esophageal squamous cell carcinoma reveals downregulation of a cell adhesion protein, periplakin. *Proteomics*, **6**, 1011—1018, 2006.
- 14) Shariat SF, Pahlavan S, Baseman AG, Brown RM, Green AE, Wheeler TM and Lerner SP: E-cadherin expression predicts clinical outcome in carcinoma in situ of the urinary bladder. *Urology*, **57**, 60—65, 2001.
- 15) Kuruma H, Kamata Y, Takahashi H, Igarashi K, Kimura T, Miki K, Sasaki H, Hayashi N and Egawa S: Staphylococcal nuclease domain-containing protein 1 as a potential tissue marker for prostate cancer. *Am J Pathol*, **174**(6), 2044—2050, 2009.

- 16) Depondt J, Shabana AH, Florescu-Zorila S, Gehanno P and Forest N: Down-regulation of desmosomal molecules in oral and pharyngeal squamous cell carcinomas as a marker for tumour growth and distant metastasis. *Eur J Oral Sci*, **107**, 183—193, 1999.
- 17) Papagerakis S, Shabana AH, Depondt J, Pibouin L, Blin-Wakkach C and Berdal A: Altered plakoglobin expression at mRNA and protein levels correlates with clinical outcome in patients with oropharynx squamous carcinomas. *Hum Pathol*, **35**, 75—85, 2004.
- 18) Papagerakis S, Shabana AH, Pollock BH, Papagerakis P, Depondt J and Berdal A: Altered desmoplakin expression at transcriptional and protein levels provides prognostic information in human oropharyngeal cancer. *Hum Pathol*, **40**, 1320—1329, 2009.
- 19) Campone M, Valo I, Jezequel P, Moreau M, Boissard A, Campion L, Loussouarn D, Verrielle V, Coqueret O and Guette C: Prediction of recurrence and survival for triple-negative breast cancer (TNBC) by a protein signature in tissue samples. *Mol Cell Proteomics*, **14**, 2936—2946, 2015.
- 20) Kelly KA, Bardeesy N, Anbazhagan R, Gurumurthy S, Berger J, Alencar H, Depinho RA, Mahmood U and Weissleder R: Targeted nanoparticles for imaging incipient pancreatic ductal adenocarcinoma. *PLoS Med*, **5**, e85, 2008.
- 21) Yoshida T, Shiraki N, Baba H, Goto M, Fujiwara S, Kume K and Kume S: Expression patterns of epiplakin1 in pancreas, pancreatic cancer and regenerating pancreas. *Genes Cells*, **13**, 667—678, 2008.
- 22) Katada K, Tomonaga T, Satoh M, Matsushita K, Tonoike Y, Kodera Y, Hanazawa T, Nomura F and Okamoto Y: Plectin promotes migration and invasion of cancer cells and is a novel prognostic marker for head and neck squamous cell carcinoma. *J Proteomics*, **75**, 1803—1815, 2012.

EXPRESSION OF PLAKIN FAMILY IN UROTHELIAL CARCINOMA OF THE UPPER URINARY TRACT

Yuichi Hasegawa¹, Yuko Kamata², Takashi Yorozu³, Hiroyuki Takahashi³, Takahiro Kimura¹, Hidetoshi Kuruma¹, Ryuji Tabata¹, Tatsuya Shimomura¹, Hiroki Yamada¹, Hiroshi Sasaki¹ and Shin Egawa¹

¹*Department of Urology, The Jikei University School of Medicine*

²*Division of Oncology, Research Center for Medical Sciences, The Jikei University School of Medicine*

³*Department of Pathology, The Jikei University School of Medicine*

Abstract:

(Objective) To determine whether the plakin family proteins periplakin, desmoplakin, plectin, and envoplakin could be markers of urothelial carcinoma of the upper urinary tract.

(Materials and methods) Fifty-seven surgical specimens were obtained from patients with urothelial carcinoma of the upper urinary tract, who were admitted to the Jikei University Hospital between April 2000 and December 2005. The expression of plakin family proteins in cancerous and normal tissues was investigated using immunohistochemistry, and its association with clinicopathological parameters was analyzed.

(Results) The expression of periplakin, envoplakin, and desmoplakin was significantly lower in cancerous tissue than in normal urothelium ($P < 0.0001$, $P < 0.0001$, and $P < 0.0001$, respectively). Strong desmoplakin expression in cancerous tissue was significantly associated with poor cancer-specific survival and overall survival ($P = 0.023$ and $P = 0.034$, respectively, compared with cancerous tissue with slight or less desmoplakin expression). Furthermore, strong plectin expression was significantly associated with poor metastasis-free survival ($P = 0.034$, compared with cancerous tissue with slight or less plectin expression).

(Conclusion) Plakin family, particularly desmoplakin was suggested to be a prognostic marker of urothelial carcinoma of the upper urinary tract.

(*Jpn. J. Urol* 108(2): 87-95, 2017)

Keywords: plakin family, urothelial carcinoma, upper urinary tract

Received: May 20, 2016, Accepted: November 22, 2016

© 2017 The Japanese Urological Association