

肝内結石症の胆道発癌:病理学的立場から

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2017-10-03 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/2297/40456

肝内結石症診療の現況

肝内結石症の胆道発癌—病理学的立場から

佐藤 保則¹⁾・中沼 安二¹⁾

要約：肝内結石症の胆道発癌に関して、病理学的立場から前癌/初期癌病変である胆管内乳頭状腫瘍 (intraductal papillary neoplasm of the bile duct : IPNB) と胆管上皮内腫瘍性病変 (biliary intraepithelial neoplasia : BiIN) を中心に解説した。当初、IPNB と BiIN は肝内結石症からの発癌過程における病態が着目されたが、WHO 分類に採用されたこともあり、現在は胆道系一般に用いることが可能な概念として広く浸透しつつある。IPNB 分類、BiIN 分類を用いて、これらの臨床病理学的、分子生物学的な解析が進行している。IPNB と乳頭型胆道癌あるいは胆管内発育型肝内胆管癌との異同についても病理学的な解析結果が示されつつある。

Key words：肝内結石症、多段階発癌、BiIN, IPNB

はじめに

肝内結石症は胆管癌の確立された危険因子であり、5～10%の症例に肝内胆管癌を合併するとされる¹⁾。発癌の背景には胆汁うっ滞や胆道感染が存在し、それに伴う慢性胆管炎、胆管上皮傷害を基盤として胆管癌が発生する。この発癌は前癌病変から浸潤癌へと多段階の過程を経て進行するとされ、前癌/初期癌病変として胆管内乳頭状腫瘍 (intraductal papillary neoplasm of the bile duct : IPNB) と胆管上皮内腫瘍性病変 (biliary intraepithelial neoplasia : BiIN) が知られている²⁾。

IPNB と BiIN は当初、肝内結石症を対象として解析が行われたが^{3,4)}、2010年に改訂された消化器腫瘍のWHO分類にIPNB分類とBiIN分類が新たに採用されたこともあり、現在は胆道系一般に広く適用されつつある⁵⁾。IPNB分類、BiIN分類を用いて、これら病変の臨床病理学的、分子生物学的な解析が進行している。

本稿では、肝内結石症からの胆道発癌について、病

理的立場からとくに前癌/初期癌病変であるIPNBとBiINを中心に最近の知見も交えて解説する。なお、とくにIPNBについては肝内結石症のみを対象疾患として解析を行った成績は多くなく、ここではIPNBとBiINの一般的な特徴を述べる。

I. IPNB

1. 概念

胆管内腔において、通常は肉眼的に観察可能な乳頭状腫瘍を形成する(図1)。60～70歳で発見されることが多く、性差はないか男性にやや多い。肝臓では左葉に発生する頻度が高い。同時性の多発例や異時性の発生例も経験される(図2)。背景疾患として肝内結石症の他に肝吸虫症がよく知られている。硬変肝に発生することは例外的である⁶⁾。

IPNB分類は膵臓の膵管内乳頭粘液性腫瘍 (intraductal papillary mucinous neoplasm : IPMN) のうち、主膵管型IPMNとの対比を主に想定している。まれに胆管周囲付属腺に病変の主座を置く症例が経験され、近年、われわれはこうした病変を膵臓の分枝型IPMNとの対比から“分枝型IPNB”と呼ぶことを提唱している(図3)^{7,8)}。また、明確な定義はないが、WHO分類では胆管の著明な嚢状拡張を伴うIPNBをcystic variantと呼称している。

Pathological Features of Cholangiocarcinogenesis in
Hepatolithiasis

Yasunori Sato et al

1) 金沢大学大学院医学系研究科形態機能病理学
(〒920-8640 金沢市宝町13番1号)

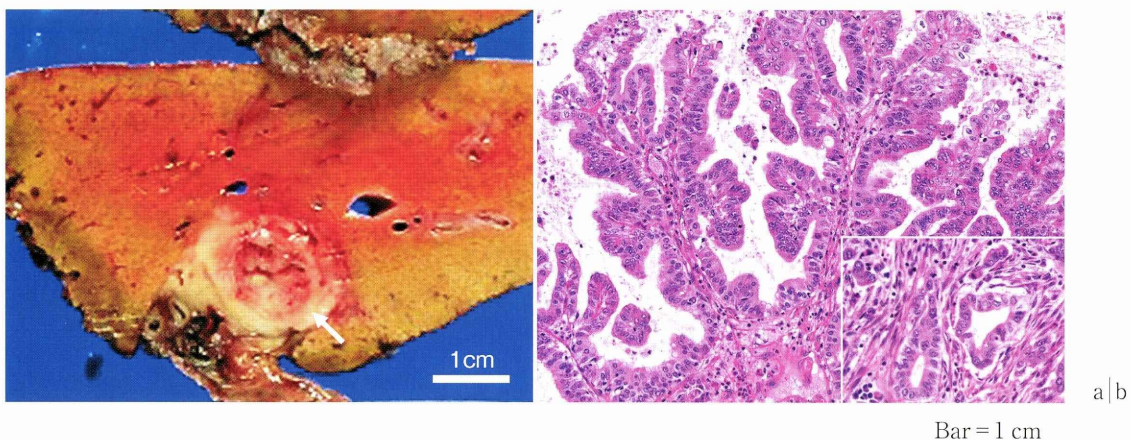


図 1 胆管内乳頭状腫瘍 (IPNB)

- a : 胆管内腔に充満する乳頭状腫瘍 (矢印)。
b : 胆嚢型の上皮が乳頭状に増殖し、周囲に浸潤癌 (管状腺癌, インセット) を伴う。

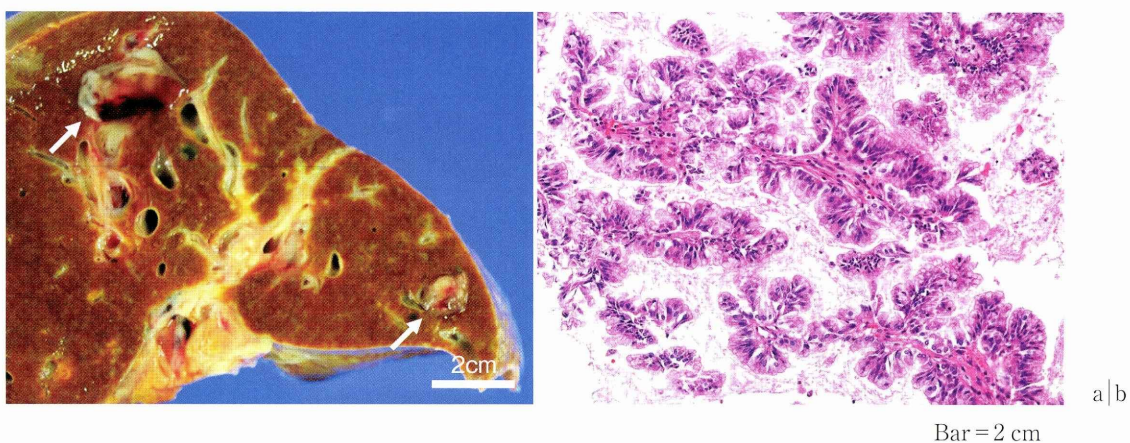


図 2 胆管内乳頭状腫瘍 (IPNB) 異時性多発例

- a : 肝内に多発する IPNB (矢印)。
b : 胃型、高度異型の乳頭状上皮の増殖。

本例は胆嚢 intracystic papillary neoplasm と肝外胆管 IPNB に対する外科的切除の既往を有する。病理解剖症例。

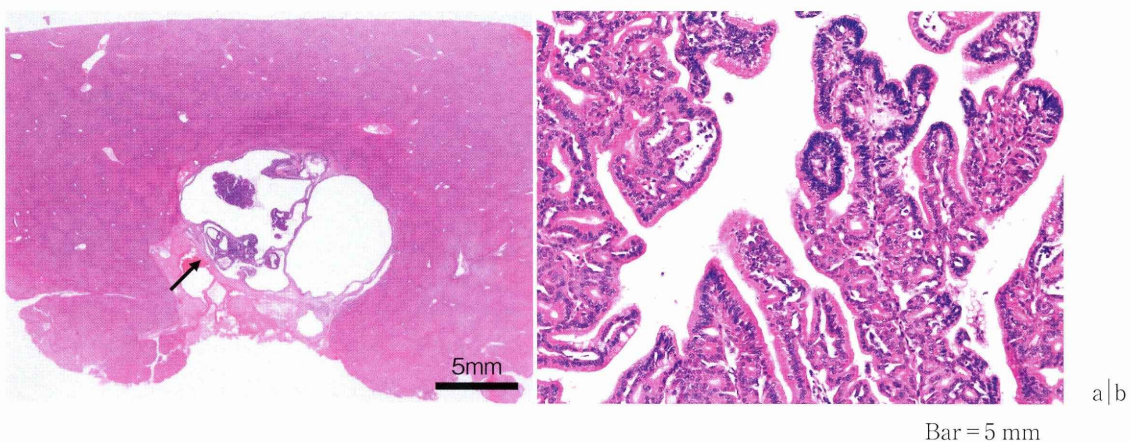


図 3 胆管内乳頭状腫瘍 (いわゆる分枝型 IPNB)

- a : 拡張した胆管周囲付属腺内に腫瘍を認める (矢印)。
b : 腫瘍部の拡大像。軽度異型の上皮が乳頭管状に増殖する。

胆嚢では、WHO 分類に intracystic papillary neoplasm が組織分類の一つとして加わった。胆管の IPNB と同等の病変と考えられるが、これは従来から用いられている papillary adenoma などとの異同が不明確で混乱を生じている。最近、Adsay ら⁹⁾は胆嚢および Vater 乳頭部に発生する乳頭管状腫瘍をそれぞれ intracholecystic papillary-tubular neoplasm (ICPN), intra-ampullary papillary-tubular neoplasm (IAPN) と呼ぶことを提唱し、胆道系と膵臓の管腔内に発生する乳頭状(管状)病変を総合的にとらえる概念を示している。

2. 臨床病理

IPNB の細胞形質は胆嚢型、腸型、胃型、オンコサイト型の 4 型に分類される。胆嚢型の頻度が高く、多くは癌に相当する異型性を示す。WHO 分類では上皮の異型性の程度を low/intermediate/high-grade intraepithelial neoplasia に分類し、浸潤癌を伴うものを IPN with an associated invasive carcinoma に分類する。

浸潤部の組織型は多くは管状腺癌もしくは粘液癌で、胆嚢型の IPNB で管状腺癌、腸型では粘液癌が好発する。まれに IPNB が腺内分泌細胞癌の組織形態を示した報告例がある¹⁰⁾。浸潤部の組織型が管状腺癌の症例は粘液癌より予後不良である¹¹⁾。その他、MUC1 や CEA の陽性発現、浸潤性病変を有することや深部への浸潤傾向、外科的切除断端陽性、多発性病変であることが予後不良因子として報告されている^{12~14)}。

3. 乳頭状胆道癌と IPNB

IPNB はその成り立ちにおいて通常型胆管癌と違いのあることが示されつつあるが、これまでに IPNB と乳頭型胆道癌あるいは胆管内発育型肝内胆管癌との異同が不明確であるという指摘があり、また、粘液産生の多寡による IPNB の性質の違いも指摘されてきた¹⁵⁾。

最近、われわれは厚生省「難治性の肝・胆道疾患に関する調査研究」(代表者 鹿児島大学大学院 坪内博仁教授)の肝内結石症分科会・発癌ワーキンググループでの多施設研究として、過去に乳頭状胆道癌(乳頭型胆道癌、胆管内発育型肝内胆管癌)と病理診断された外科的切除材料 154 例を対象に、これらが現在の基準で IPNB と診断できるかどうかを調査した¹⁶⁾。IPNB の診断クライテリアを設定して判定を行った結果、154 例中 126 例(82%)が IPNB に相当した(診断クライテリアは文献 16 を参照)。それ以外の 28 例(18%)は管状腺癌や癌肉腫などの症例であった。このように従来、乳頭型胆道癌や胆管内発育型肝内胆管癌と診断していた症例の多くが IPNB と診断できることが明らかとなった。

この調査結果では、IPNB の細胞形質は胆嚢型 38%、胃型 24%、腸型 23%、オンコサイト型 15%であり、従来の報告より胃型が多い傾向にあった。胃型が多い理由として、これまでの IPNB の解析は主に肝門部胆管あるいは肝内胆管に発生した症例を対象としていたが、本調査では肝外胆管の症例が多く含まれていたことによる可能性もあると思われる。

IPNB の診断クライテリアを満たした症例のうち 34%は高異型度(high-grade) IPNB, 61%は浸潤癌を伴う IPNB であり、手術をされた時点で癌としての異型性を有する症例が大半を占めた。浸潤の程度は軽度のものが多かった。また、30%の症例で周囲の胆道粘膜に広範囲な腫瘍細胞の進展を認めた。粘液の過剰産生は全体として 36%の症例にみられ、肝内大型胆管の IPNB で 53%、肝門部胆管では 40%の症例に認められたが、肝外胆管では 3%の症例のみであり、IPNB の発生部位による粘液産生の程度の違いが明確にみられた。

4. 分子病理

IPNB の分子異常として、KRAS 変異は 30%程度、マクロサテライト不安定性は 10%程度でみられると報告されている^{17,18)}。β-catenin の核内発現亢進や p53 蛋白の発現亢進、SMAD4 の発現低下もみられる¹⁹⁾。近年、膵臓では GNAS 変異と膵腫瘍発生との関連が注目されており、IPMN では約 40%に GNAS 変異がみられるが、膵管癌で変異が検出されることはないとされている²⁰⁾。最近の報告では、IPNB で GNAS 変異はほとんど検出されず、また、HER2 の過剰発現や EGFR 変異もまれとされている^{21,22)}。IPNB の GNAS 変異の頻度に関しては、まだ十分な検討は行なわれていない。

II. BilIN

1. 概念

BilIN は慢性胆管炎などの胆管上皮傷害を背景として多段階発癌の過程で発生する胆道癌の前癌/初期癌病変として位置付けられ、従来の胆管上皮ディスプラジアに相当する。膵臓の膵上皮内腫瘍性病変(pancreatic intraepithelial neoplasia: PanIN)との対比を想定しており、以前に厚生省「肝内結石症に関する調査研究」(主任研究者 杏林大学 跡見裕教授)の発癌ワーキンググループが行った多施設研究の成果に基づいて提唱された概念である。

BilIN は肉眼や画像で検出できない顕微鏡的病変で、組織学的な上皮の異型性の程度に基づき BilIN-1 (low-grade), BilIN-2 (intermediate-grade), BilIN-

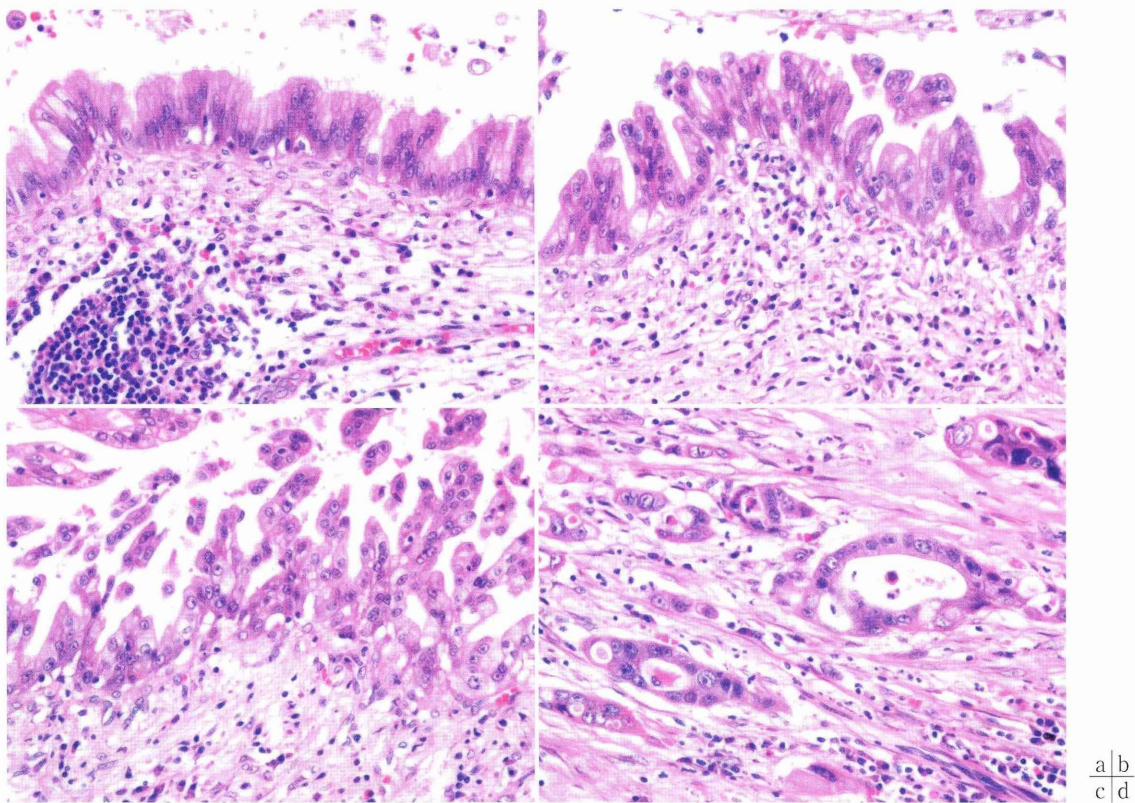


図 4 胆管上皮内腫瘍性病変 (BilIN)
 a : BilIN-1 b : BilIN-2
 c : BilIN-3 d : 浸潤癌 (管状腺癌)
 a~d は肝内結石症例の同一切片上に認めた病変。

3 (high-grade) に分類する (図 4)。BilIN-3 が上皮内癌にはほぼ相当する。BilIN 分類は肝臓病理医を対象とした interobserver agreement study でもその妥当性が確認され²³⁾、現在の WHO 分類に BilIN 分類が採用された。

2. 臨床病理

肝内結石症を対象とした検討で、浸潤癌を合併する症例はほぼ全例に BilIN-3 が認められ、同時に BilIN-1, BilIN-2 もみられる²⁴⁾。一方、浸潤癌の合併のない肝内結石症例では BilIN-1 はしばしば出現するが、BilIN-3 を認めることはほとんどない。肝内結石症に加えて、BilIN は原発性硬化性胆管炎や先天性胆道形成異常などでもみられ、最近では IgG4 関連硬化性胆管炎でも BilIN 病変が出現することが明らかになりつつある。

BilIN に類似する異型上皮病変は、肝内小型胆管や細胆管、あるいは胆管周囲付属腺にも出現する。胆管周囲付属腺にみられる BilIN 類似病変は、胆管周囲付属腺の嚢胞状拡張を伴うことがあり、こうした症例の中にわれわれが提唱する分枝型 IPNB の前駆病変が含まれている可能性があると考えている。

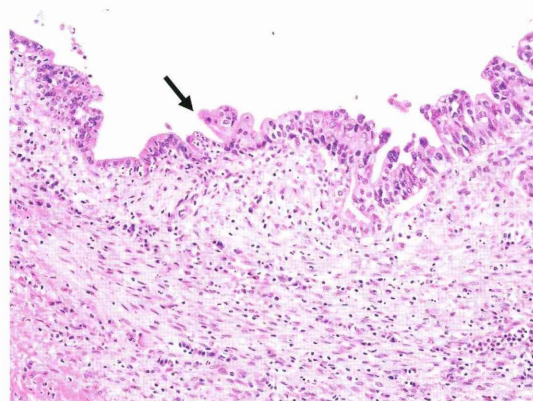


図 5 胆管の上皮内癌と非腫瘍部との移行部
 胆管の癌部と非腫瘍部上皮との間にフロント形成を認める (矢印)。胆管癌の上皮内進展の可能性はある。

最近、胆管周囲付属腺に肝前駆細胞 (stem/progenitor cells) が存在することが報告され、腫瘍発生との関連が注目されている²⁵⁾。この胆管周囲付属腺の肝前駆細胞から粘液産生性の胆管癌が発生する可能性も指摘されている²⁶⁾。発癌との関連性は不明だが、肝内結石症における胆管周囲付属腺に関連した病変とし

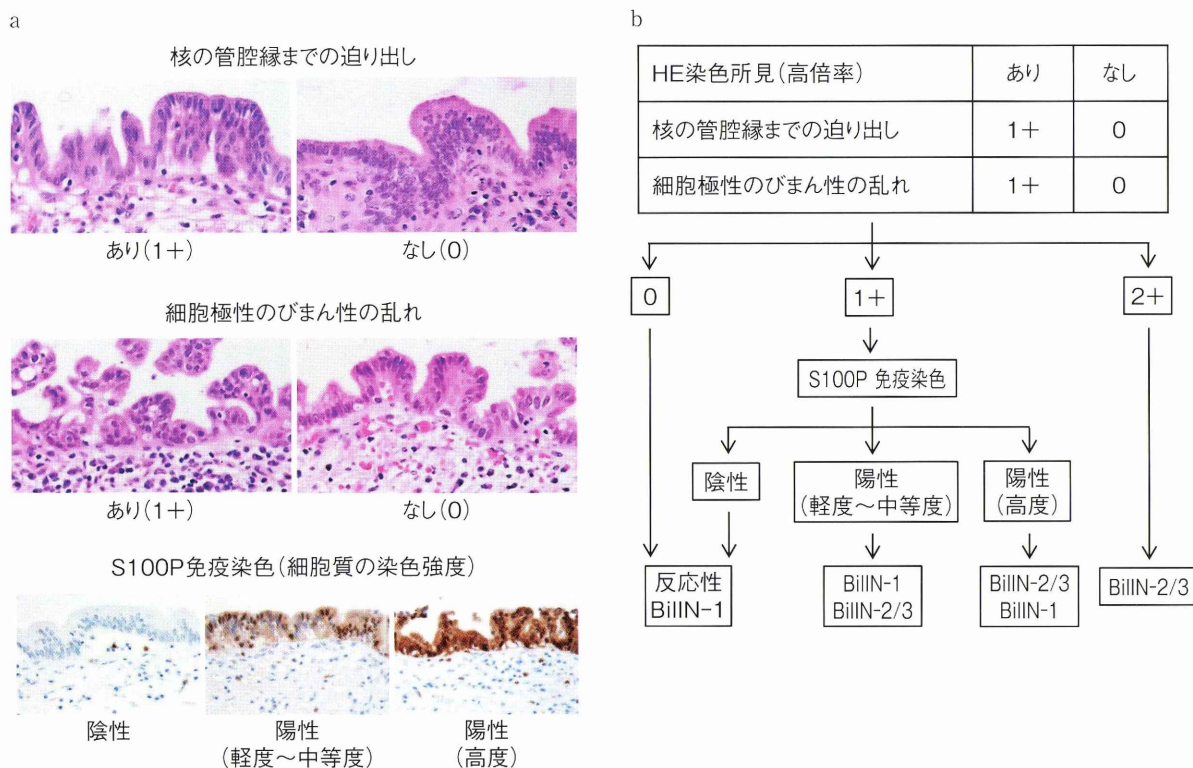


図 6 BiIN の診断アルゴリズム

a に示す HE 染色標本での BiIN の組織所見をスコア化し、b のフローチャートにしたがい異型度を分類する。S100P の免疫染色も併用する (文献 27 より改変引用)。

て、胆管周囲付属腺 (とくに粘液腺房) の著明な増生を伴う慢性増殖性胆管炎が知られている。

BiIN-3 と鑑別を要するものの一つに胆管癌の表層進展がある。顕微鏡下での観察では、いずれも癌としての異型性を有する上皮内病変である。非腫瘍部の胆管上皮との移行部に着目すると、表層進展は非腫瘍部と癌部との間に明確なフロントを形成するのに対し (図 5)、癌部から BiIN-2、BiIN-1、そして非腫瘍部へと徐々に異型性が低下していく上皮内癌病変は BiIN-3 とみなすことが可能と思われる。

非腫瘍部と癌部との間にフロントを形成する病態は表層進展以外にもありうるが、われわれは最近、こうした病変を intraepithelial spread of carcinoma (IES) と定義し、BiIN-3 との組織学的な違いを検討した²⁴⁾。その結果、IES は BiIN-3 と比較して微小乳頭状の形態を示す頻度が低いこと (顕微鏡的に平坦型が多い)、小型胆管でも出現しうること、免疫染色で p53 蛋白がより発現しやすいといった相違があった。IES と BiIN-3 の区別は組織学的にしばしば困難であるが、発癌の観点からは全く異なる概念であり、表層進展と BiIN-3 を区別してとらえる必要があることは改めて強調したい。

3. 診断アルゴリズム

組織学的に BiIN の異型度は細胞異型や核の多層化、核の管腔縁までの迫り出し、細胞極性の乱れなどに基づいて判定される。この異型度分類にはしばしば診断者間での不一致があり、上述した interobserver agreement study では BiIN-1 と反応性病変での不一致例が多かった²³⁾。

BiIN 分類を標準化することを目的として、われわれは肝内結石症の外科的切除材料の大型胆管での組織所見をもとに、BiIN の異型度分類の診断アルゴリズムを作成した (図 6)²⁷⁾。HE 染色標本で病変部を高倍率で観察し、核の管腔縁までの迫り出しがある所見を 1+、ないものを 0、細胞極性のびまん性の乱れがある所見を 1+、ないものを 0 とスコア化する。二つのスコアの合計が 0 であれば反応性病変もしくは BiIN-1、スコアが 2+ であれば BiIN-2 もしくは BiIN-3 に分類する。合計スコアが 1+ の病変に対しては、S100P の免疫染色を追加して行い、その陽性染色の強度にしたがって図 6 に示すように分類する。

このアルゴリズムでは BiIN の正確な異型度分類はできないが、分類を行う上での参考の一つになると考えている。問題点として、BiIN ではしばしば化生性変化を伴うが、とくに胃型化生を伴う病変をこのアル

表 1 胆管上皮内腫瘍性病変 (BiIN) で発現異常を示す分子

発現異常	分子
発現亢進	MUC5AC
	cyclin D1
	p21
	p53
	c-myc
	S100A2
	S100A4
	S100A6
	S100P
	liver-intestine cadherin
	MMP-7
	MT1-MMP
	HSP27
	HSP70
	claudin-18
	IMP3
	EZH2
	Pdx1
発現低下	E-cadherin (membranous)
	β -catenin (membranous)
	Dpc4
	p16
	pVHL
	CD10

BiIN, biliary intraepithelial neoplasia ; HSP, heat shock protein ; IMP3, insulin-like growth factor- II mRNA binding protein-3 ; MMP, matrix metalloproteinase ; MT1-MMP, membrane type 1-MMP ; pVHL, von Hippel-Lindau gene product ; Pdx1, pancreatic and duodenal homeobox 1 (文献 27 より改変引用)。

ゴリズムに当てはめると実際の異型度より低く分類されることが多く、胃型化生を伴う病変には適用できない。また、S100P の免疫染色に関しては、反応性病変や BiIN-1 でも陽性となることがあり注意を要する。さらに手術材料での組織所見をもとに作成したものであり、胆管生検に応用可能かどうかについても検証する必要がある。

4. 分子病理

BiIN の分子生物学的異常の解析が進行している。これまで文献的に報告された、BiIN で発現亢進もしくは発現低下を示す分子を表 1 に示す²⁷⁾。多くの分子は BiIN の異型度の増加とともに段階的にその発現が亢進もしくは低下し、浸潤癌になるとその傾向がより顕著となる。とくに S100P は BiIN-1 から BiIN-2 にかけての発現誘導が顕著に認められ^{28,29)}、組織診断を行う上での参考になると思われる。

BiIN での *KRAS* 変異は 30% 前後であり、膵臓の PanIN ほど高率ではない³⁰⁾。また、BiIN では *GNAS* 変異はみられなかったと報告されている³⁰⁾。BiIN から胆管癌が発生する背景には慢性炎症が存在すること

が多く、膵臓の PanIN からの発癌と比較してその発癌過程で生じる分子異常はより複雑であることが推測される。

現在、BiIN は肉眼、画像的に検出不可能な病変であり、胆管癌を早期診断する上で BiIN を検出する試みは今後の重要な課題である。膵臓では PanIN からの発癌を示す動物モデルが存在し、*in vivo* イメージングの手法により PanIN を検出する動物実験での成績が報告されているが^{31,32)}、BiIN から胆管癌が発生する動物モデルは現在のところ確立されていない。

BiIN で発現が亢進しそれが胆汁からも検出可能であれば、その分子は胆管癌の早期発見の胆汁バイオマーカーとなる可能性を有する。その候補分子として、われわれは heat shock protein (HSP) 27 と HSP70, S100P を報告した^{29,33)}。Wisteria floribunda agglutinin (WFA)-positive mucin 1 も胆管癌の有望なバイオマーカーであることが報告されている³⁴⁾。

おわりに

肝内結石症の胆道発癌に関して、病理学的立場から前癌/初期癌病変である IPNB と BiIN を中心に解説した。現在、IPNB 分類と BiIN 分類は臨床の現場や研究面で広く用いられつつある。IPNB と BiIN に関する研究は膵臓の IPMN、PanIN に追従するように進行しているが、今後も IPMN 分類、BiIN 分類のさらなる一般化を目指して臨床病理学的、分子生物学的研究を継続していく必要がある。

参考文献

- 1) Charbel H, Al-Kawas FH : Cholangiocarcinoma : epidemiology, risk factors, pathogenesis, and diagnosis. *Curr Gastroenterol Rep* **13** : 182-187, 2011.
- 2) Nakanuma Y, Sasaki M, Sato Y, et al. : Multistep carcinogenesis of perihilar cholangiocarcinoma arising in the intrahepatic large bile ducts. *World J Hepatol* **1** : 35-42, 2009.
- 3) Chen TC, Nakanuma Y, Zen Y, et al. : Intraductal papillary neoplasia of the liver associated with hepatolithiasis. *Hepatology* **34** : 651-658, 2001.
- 4) Zen Y, Aishima S, Ajioka Y, et al. : Proposal of histological criteria for intraepithelial atypical/proliferative biliary epithelial lesions of the bile duct in hepatolithiasis with respect to cholangiocarcinoma : preliminary report based on interobserver agreement. *Pathol Int* **55** : 180-188, 2005.
- 5) Klöppel G, Adsay V, Konukiewicz B, et al. : Precancerous lesions of the biliary tree. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* **27** : 285-297, 2013.
- 6) Xu J, Sato Y, Harada K, et al. : Intraductal papillary neoplasm of the bile duct in liver cirrhosis with hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol* **14** : 1923-1926, 2011.
- 7) Nakanishi Y, Zen Y, Hirano S, et al. : Intraductal oncocytic papillary neoplasm of the bile duct : the first case of peribiliary gland origin. *J Hepatobiliary Pancreat Surg* **16** : 869-873, 2009.
- 8) Nakanuma Y, Sato Y : Cystic and papillary neoplasm involving peribiliary glands : a biliary counterpart of branch-type intraductal papillary mucinous neoplasm? *Hepatology* **55** : 2040-2041, 2012.
- 9) Adsay V, Jang KT, Roa JC, et al. : Intracholecystic papillary-tubular neoplasms (ICPN) of the gallbladder (neoplastic polyps, adenomas, and papillary neoplasms that are ≥ 1.0 cm) : clinicopathologic and immunohistochemical analysis of 123 cases. *Am J Surg Pathol* **36** : 1279-1301, 2012.
- 10) Onishi I, Kitagawa H, Harada K, et al. : Intraductal papillary neoplasm of the bile duct accompanying biliary mixed adenoneuroendocrine carcinoma. *World J Gastroenterol* **19** : 3161-3164, 2013.
- 11) Zen Y, Fujii T, Itatsu K, et al. : Biliary papillary tumors share pathological features with intraductal papillary mucinous neoplasm of the pancreas. *Hepatology* **44** : 1333-1343, 2006.
- 12) Rocha FG, Lee H, Katabi N, et al. : Intraductal papillary neoplasm of the bile duct : a biliary equivalent to intraductal papillary mucinous neoplasm of the pancreas? *Hepatology* **56** : 1352-1360, 2012.
- 13) Jung G, Park KM, Lee SS, et al. : Long-term clinical outcome of the surgically resected intraductal papillary neoplasm of the bile duct. *J Hepatol* **57** : 787-793, 2012.
- 14) Kang MJ, Jang JY, Lee KB, et al. : Impact of macroscopic morphology, multifocality, and mucin secretion on survival outcome of intraductal papillary neoplasm of the bile duct. *J Gastrointest Surg* **17** : 931-938, 2013.
- 15) Ohtsuka M, Kimura F, Shimizu H, et al. : Similarities and differences between intraductal papillary tumors of the bile duct with and without macroscopically visible mucin secretion. *Am J Surg Pathol* **35** : 512-521, 2011.
- 16) 中沼安二, 佐々木素子, 佐藤保則, ほか : 胆道癌の病理診断. *消外* **36** : 1097-1108, 2013.
- 17) Abraham SC, Lee JH, Hruban RH, et al. : Molecular and immunohistochemical analysis of intraductal papillary neoplasms of the biliary tract. *Hum Pathol* **34** : 902-910, 2003.
- 18) Abraham SC, Lee JH, Boitnott JK, et al. : Microsatellite instability in intraductal papillary neoplasms of the biliary tract. *Mod Pathol* **15** : 1309-1317, 2002.
- 19) Nakanishi Y, Zen Y, Kondo S, et al. : Expression of cell cycle-related molecules in biliary premalignant lesions : biliary intraepithelial neoplasia and biliary intraductal papillary neoplasm. *Hum Pathol* **39** : 1153-1161, 2008.
- 20) Furukawa T, Kuboki Y, Tanji E, et al. : Whole-exome sequencing uncovers frequent GNAS mutations in intraductal papillary mucinous neoplasms of the pancreas. *Sci Rep* **1** : 161, 2011.
- 21) Matthaei H, Wu J, Dal Molin M, et al. : GNAS codon 201 mutations are uncommon in intraductal papillary neoplasms of the bile duct. *HPB (Oxford)* **14** : 677-683, 2012.
- 22) Schlitter AM, Born D, Bettstetter M, et al. : Intraductal papillary neoplasms of the bile duct : stepwise progression to carcinoma involves common molecular pathways. *Mod Pathol* : 2013 (in press).
- 23) Zen Y, Adsay NV, Bardadin K, et al. : Biliary intraepithelial neoplasia : an international interobserver agreement study and proposal for diagnostic criteria.

- Mod Pathol **20** : 701-709, 2007.
- 24) Sato Y, Harada K, Sasaki M, et al. : Histological characteristics of biliary intraepithelial neoplasia-3 and intraepithelial spread of cholangiocarcinoma. *Virchows Arch* **462** : 421-427, 2013.
 - 25) Cardinale V, Wang Y, Carpino G, et al. : The biliary tree-a reservoir of multipotent stem cells. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* **9** : 231-240, 2012.
 - 26) Cardinale V, Wang Y, Carpino G, et al. : Mucin-producing cholangiocarcinoma might derive from biliary tree stem/progenitor cells located in peribiliary glands. *Hepatology* **55** : 2041-2042, 2012.
 - 27) Sato Y, Sasaki M, Harada K, et al. : Pathological diagnosis of flat epithelial lesions of the biliary tract with emphasis on biliary intraepithelial neoplasia. *J Gastroenterol* : 2013 (in press).
 - 28) Aishima S, Fujita N, Mano Y, et al. : Different roles of S100P overexpression in intrahepatic cholangiocarcinoma : carcinogenesis of perihilar type and aggressive behavior of peripheral type. *Am J Surg Pathol* **35** : 590-598, 2011.
 - 29) Sato Y, Harada K, Sasaki M, et al. : Clinicopathological significance of S100 protein expression in cholangiocarcinoma. *J Gastroenterol Hepatol* **28** : 1422-1429, 2013.
 - 30) Hsu M, Sasaki M, Igarashi S, et al. : KRAS and GNAS mutations and p53 overexpression in biliary intraepithelial neoplasia and intrahepatic cholangiocarcinomas. *Cancer* **119** : 1669-1674, 2013.
 - 31) Eser S, Messer M, Eser P, et al. : In vivo diagnosis of murine pancreatic intraepithelial neoplasia and early-stage pancreatic cancer by molecular imaging. *Proc Natl Acad Sci U S A* **108** : 9945-9950, 2011.
 - 32) Cruz-Monserrate Z, Abd-Elgaliel WR, Grote T, et al. : Detection of pancreatic cancer tumours and precursor lesions by cathepsin E activity in mouse models. *Gut* **61** : 1315-1322, 2012.
 - 33) Sato Y, Harada K, Sasaki M, et al. : Heat shock proteins 27 and 70 are potential biliary markers for the detection of cholangiocarcinoma. *Am J Pathol* **180** : 123-130, 2012.
 - 34) Matsuda A, Kuno A, Kawamoto T, et al. : Wisteria floribunda agglutinin-positive mucin 1 is a sensitive biliary marker for human cholangiocarcinoma. *Hepatology* **52** : 174-182, 2010.

* * *