

胆道癌の分子生物学的特性

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/2297/39993

膵・胆道癌における分子標的治療の動向

胆道癌の分子生物学的特性*

中沼 安二¹⁾・原田 憲一¹⁾・佐々木素子¹⁾・佐藤 保則¹⁾・池田 博子²⁾

要約：胆道癌は、代表的な難治性の悪性腫瘍であり、現在、早期発見と外科的切除が唯一の根治治療法とされている。胆道癌の治療や予後の改善には胆道癌の生物学的あるいは分子生物学的特性を理解する必要がある。現在、胆道癌の発生、進展には多くの分子が関与することが知られている。癌抑制遺伝子である p16^{INK4a} は胆道癌の進展とともに発現が低下し、ポリコム蛋白である EZH2 は逆に発現亢進を示す。また、胆道癌は慢性胆道障害に関連して発生する症例があり、慢性炎症部や胆道癌先進部、さらに胆道癌細胞自身で産生される炎症性サイトカイン、特に TNF α 、IL6 が胆道癌内に発現する COX2、PGE2 および MMP9 などの重要な内因性腫瘍促進因子として、胆道癌の発生・進展に関連している。今後、これら分子とその作用機序を標的とした有効な化学療法や分子標的治療等の補助療法の開発が望まれる。

Key words：胆道癌, BilIN, IPNB, TNF α

はじめに

胆道癌は、中高齢者に多くみられ、予後不良の悪性腫瘍の一つであり、現在、世界的に増加傾向にある¹⁻³⁾。早期発見、外科的切除が現在、胆道癌の唯一の根治的な治療とされている。最近、外科手術手技が進歩し、画像診断手法やバイオマーカーの開発が進み、外科的に切除される症例も少なからず経験されるようになってきた。しかし、胆道癌と診断される時点ではすでに、外科的切除不能の症例も多いのが現状である。また、手術不能例に対して、ステントによる姑息的治療が行われているが、根治的なものではない^{3,4)}。また、進行胆道癌に対して十分な予後改善をもたらす化学療法や放射線療法も確立されていない。癌の発生、進展過程で、癌関連遺伝子の活性化、非活性化などの変化に関連して、種々の分子の発現亢進や抑制がみられる。これらの分子を標的とした分子標的治療が、現在、固形癌でも試みられつつあり、胆道癌で

も期待されているが、いまだ確立された治療法は知られていない⁵⁻⁷⁾。

本稿では、胆道癌あるいは肝内胆管癌の傍肝門型を含めた肝門部胆管癌の初期病変、特に慢性胆管炎にみられる多段階発癌の病理形態像を述べ、次いで癌の発生、進展、転移に関連する分子、遺伝子異常に関して、分子生物学的な観点からオーバービューする。次いで、胆道癌の発生・進展と炎症性サイトカイン、特に TNF α と IL6 との関連性に関して、われわれの成績を加えながら解説する。

I. 胆道癌の初期病変, 進行病変

胆道癌、特に胆管癌は多段階発癌を示すことが知られており、その前癌病変あるいは初期癌病変として、平坦型 flat type と乳頭型 papillary type の胆管上皮内異型病変が知られている⁸⁻¹¹⁾。これらの病変は、主に肝内結石症などの慢性胆管炎、胆管障害から発生する胆道系腫瘍を用いた研究で明らかとなっている。

1. 平坦型胆管上皮異型病変：胆管上皮層内腫瘍性病変 (biliary intraepithelial neoplasm, BilIN)

肝内胆管癌を合併した肝内結石症の非癌部、あるいは肝内結石症単独例で、胆管被覆上皮および増生した胆管付属線に種々の異型病変がみられる¹²⁾。これらの

* Characteristics of Biliary Tract Carcinoma with Respect from Molecular Biology

1) 金沢大学大学院医学系研究科形態機能病理学 (〒920-8641 金沢市宝町 13-1)
2) 金沢大学附属病院病理部

異型病変は、その異型度により BiIN1, BiIN2, BiIN3 の3段階に分類される。BiIN1は、従来の軽度のディスプラジアに相当し、BiIN3は上皮内癌であり、BiIN1とBiIN2は腫瘍性ではあるが、癌とは言えないものとし、異型の程度により二分した^{12,13)}。

2. 乳頭型胆管上皮異型病変：胆管内乳頭状病変 intraductal papillary neoplasm of bile duct (IPNB)

乳頭状異型病変 IPNB は、肉眼レベルでの病変で、しばしば胆管拡張を伴い、拡張した胆管内で、乳頭状の増殖を示す腺癌あるいは異型上皮の腫瘍性増殖である。組織学的に高分化型の乳頭状腺癌あるいは絨毛状の腺癌で、いわゆる *in situ* 癌もみられ、さらに細胞異型や構造異型の観点から、癌とは言えない症例（高異型度あるいは低異型度のディスプラジア）もみられる。現在、胆道癌取扱い規約¹⁴⁾に記載されている胆道癌の乳頭型、特に胆管内に発育する乳頭型（膨張型および浸潤型）、さらに原発性肝癌取扱い規約¹⁵⁾で定義されている肝内胆管癌の胆管内発育型 intraductal growth が含まれる。

3. 進行性胆道癌

上述した前癌病変あるいは初期癌病変は、いずれも浸潤癌に移行することが知られており、BiINは結節型あるいは浸潤型の胆道癌へと進展し、癌細胞は胆管の基底膜を越え、胆管壁内へと浸潤する。管状腺癌あるいは微小乳頭状腺癌の像を示す例が多い（図1）。また、IPNBからは、通常型胆道癌への進展に加え、粘液癌へと進展することが知られている⁸⁾。胆道癌は、腺癌と同じく、高分化型および中分化型腺癌の例が多く、豊富な線維性間質を伴う。また、しばしば神経周囲浸潤がみられる。

II. 胆道癌での分子生物学

胆道癌の発生、進展に関連して、多くの生物学的現象が発生し、これに関連した多種類の遺伝子の発現異常や各種分子や酵素の活性化、非活性化が生じていることが報告されている。本稿では、胆道癌の発生・進展に関連する分子生物学の概要を述べ、次いで最近注目されている炎症性サイトカインである TNF α と IL6 と胆道癌の発生・進展との関連性を述べる。

1. 胆道癌の発生進展に関連する分子生物学

胆道癌あるいは胆管癌の少なくとも一部は肝内結石症や原発性硬化性胆管炎、また先天性の胆道形成異常などの慢性胆道障害、炎症を背景に発生することが知られている³⁾。慢性胆管障害の局所では、胆管上皮は

異常な胆汁酸や酸化ストレスに暴露しており、さらに炎症細胞および間質細胞、さらには傷害胆管上皮から種々のサイトカインや増殖因子、多くの生物学的活性化物質が産生、分泌される。その結果として、癌細胞あるいは前癌細胞がアポトーシス、細胞老化や免疫監視機構から回避し、無制限な増殖能や浸潤や転移に関連する分子や酵素の活性化を獲得するとされている。また腫瘍細胞の epithelial mesenchymal transition 等が胆道癌の発生・進展に関連することが注目されている。特に、腫瘍内で産生、分泌される prostaglandin E2 (PGE2), cyclooxygenase-2 (COX2), matrix metalloproteinase (MMP) 等の内因性腫瘍促進因子が直接的、間接的に腫瘍の進展に重要であり¹⁶⁾、胆道癌でもこれらの内因子の演ずる役割が注目されている^{4,17-19)}。図2に、現在知られている胆道癌にみられるこれらの生物学的現象とこれに関連する分子の概略を示す。

癌関連蛋白の発現異常：BiIN および IPNB のいずれにおいても、異型度が高くなり、浸潤癌へと進展するに従い、癌関連あるいは細胞周期関連の遺伝子や分子の発現異常が最近、明らかにされつつある。例えば、細胞周期蛋白の一つである smad4 は、BiIN では異型度が増すに従い、減弱する。逆に p21 と cyclin D1 の発現が亢進する²⁰⁾。p53 は BiIN および IPNB の後期に出現することが知られている。

胆道癌の浸潤：MMP は、亜鉛依存性の蛋白分解酵素であり、細胞外基質の各種成分を分解し、癌の浸潤に重要な酵素であり、特に MMP7 と MMP9 は胆道癌の浸潤や転移に関連し、胆道癌患者の予後にも関連することが報告されている。MMP9 は腫瘍細胞からも分泌され、TIMP (tissue inhibitor of metalloproteinases) は MMP に共通の内因性インヒビターであり、MMP7 および MMP9 との相互のバランスで胆道癌の進展に深く関連している。胆道癌と MMP に関して多くの研究がなされており、BiIN では、BiIN の異型度の進展、特に基底膜を超え間質への浸潤とともに腫瘍細胞での MMP-7 や Membrane type 1 matrix metalloproteinase (MT1-MMP) の発現が明瞭になる²¹⁻²³⁾。さらに、MMP-7 の中等度～高度の発現は胆管癌の予後不良因子とされている²¹⁾。IPNB からの浸潤癌への移行に関しても、MMP7 や MT1-MP の発現、産生が重要と考えられている。

細胞接着因子と胆道癌：胆管上皮の細胞接着や形態維持に関連する E-cadherin や β -catenin の細胞膜での発現が、BiIN の異型度の進展に関連して減少し、浸潤部での減少が明瞭である。胆管上皮細胞間の接着性

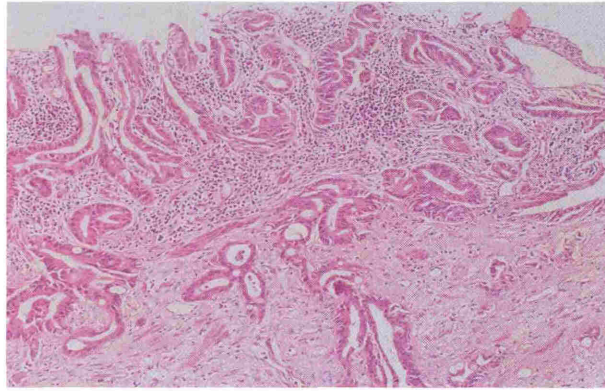


図 1 胆道癌

肝外胆管腔面および胆管壁に高分化型の腺癌をみる。
HE 染色

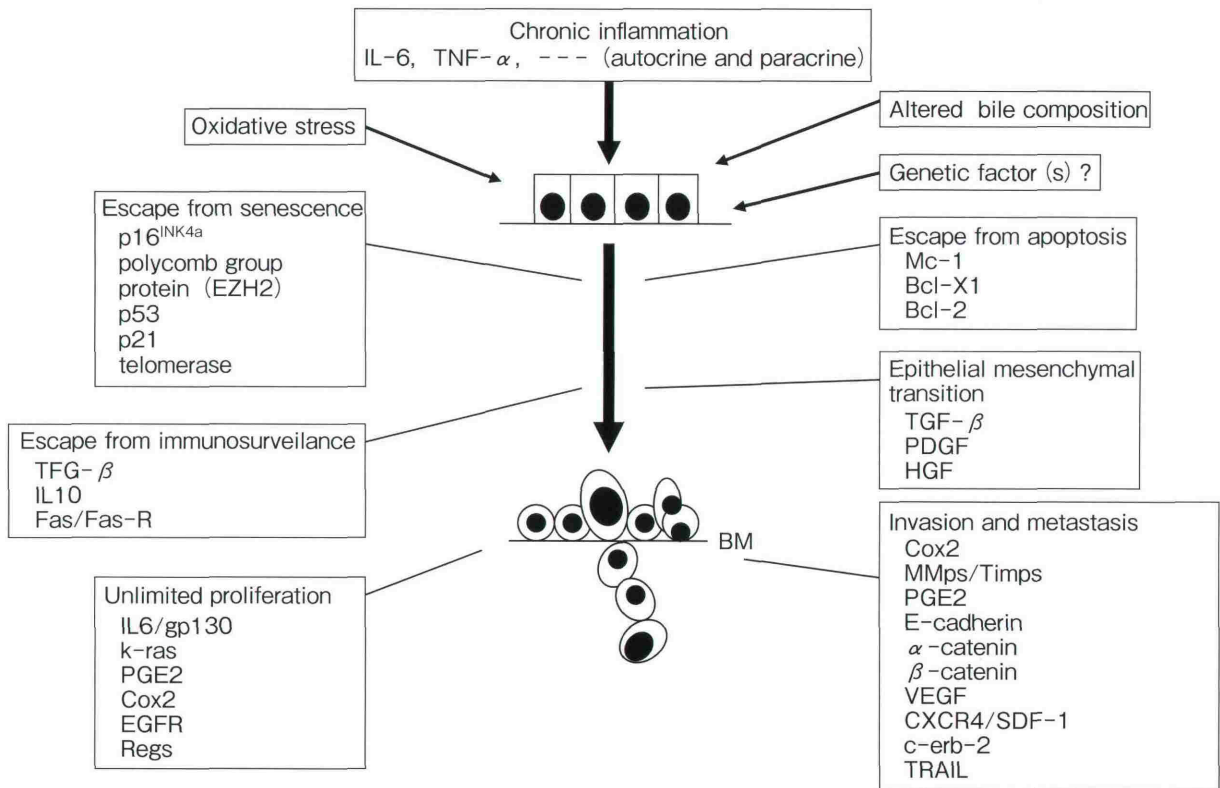


図 2 胆道癌にみられる生物学的現象とこれに関連する分子、遺伝子の発現。

の低下あるいは消失が、BiIIN の進展に深く関係していると考えられる²⁴⁾。粘液関連蛋白の発現に関して、BiIIN では、その進展に従い、MUC1 の発現亢進が段階的に増加し、浸潤性になるとその程度が強くなるということが知られている⁹⁾。

P16^{INK4a}と胆管癌：EZH2 はポリコム群タンパクのうちの一つで、ヒストンのメチル化により癌抑制遺伝子を抑制するとされており、また各種の癌において過剰発現していると報告されている。癌抑制遺伝子である P16^{INK4a} の発現低下がいくつかの悪性腫瘍の発生

進展に関係していることが知られている。胆道癌に関しては、その前癌病変である BiIIN1 では P16^{INK4a} の発現がしばしばみられるが、BiIIN の進展とともに発現が低下し、浸潤癌では P16^{INK4a} の発現はほとんどみられない。一方、ポリコム蛋白である EZH2 の発現が胆道癌の多段階発癌である BiIIN1 → BiIIN2 → BiIIN3、それに浸潤癌と進展するとともに、発現率が亢進し、逆に癌抑制遺伝子 P16^{INK4a} との発現低下に関連していることが明らかとなっている²⁵⁾。EZH2 の過剰発現が P16^{INK4a} プロモーターのメチル化を誘導し、その結果

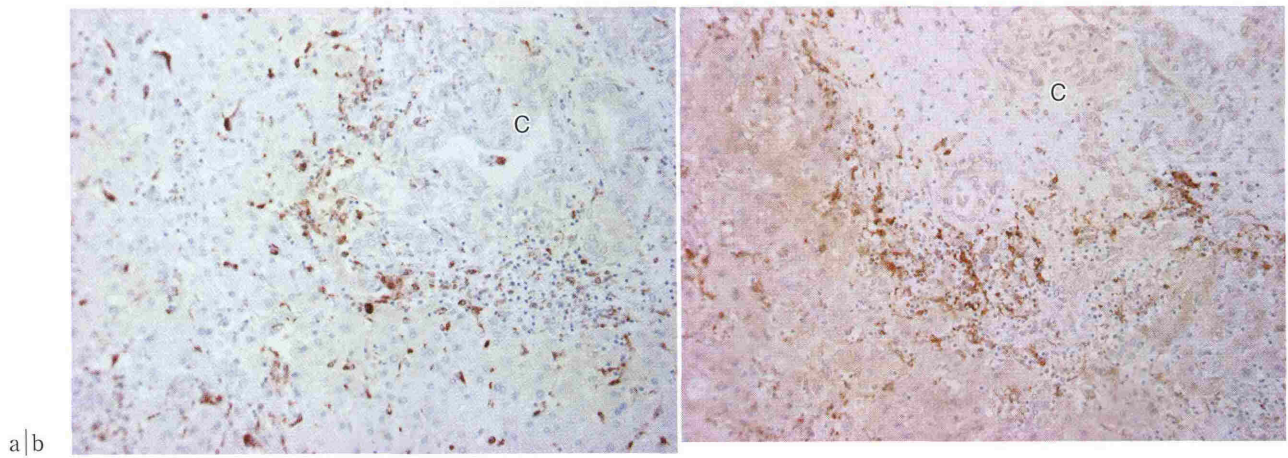


図3 胆道癌 (C) の浸潤先端部で $\text{TNF}\alpha$ 産生のマクロファージの浸潤をみる。a は CD68 の免疫染色。b は $\text{TNF}\alpha$ の免疫染色。

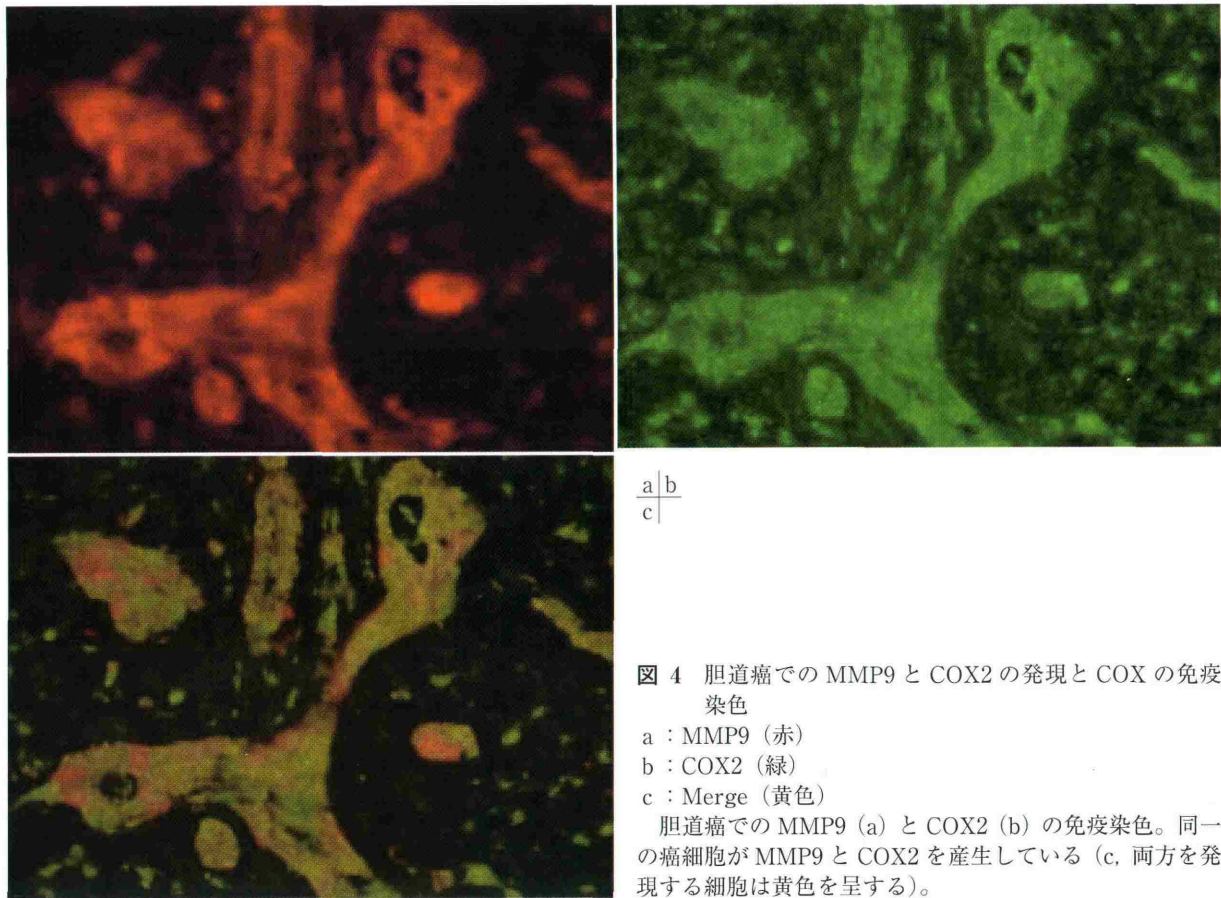


図4 胆道癌での MMP9 と COX2 の発現と COX の免疫染色

- a : MMP9 (赤)
- b : COX2 (緑)
- c : Merge (黄色)

胆道癌での MMP9 (a) と COX2 (b) の免疫染色。同一の癌細胞が MMP9 と COX2 を産生している (c, 両方を発現する細胞は黄色を呈する)。

として $\text{P16}^{\text{INK4a}}$ の発現低下を来したと考えられる²⁵⁾。乳頭状の前癌病変である IPNB でも $\text{P16}^{\text{INK4a}}$ の発現低下が早期から出現することが知られている²⁶⁾。

2. 炎症性サイトカインと胆道癌の発生、進展

胆道癌あるいは胆管癌は、慢性胆道障害を背景に発生することが知られており、これらの胆道障害部で産生される炎症性サイトカインが胆道癌の進展に重要であることが注目されている^{4,17,18)}。これらの中で、特に

$\text{TNF}\alpha$ と IL6 が注目されており、向炎症性サイトカインであると同時に、内因性腫瘍促進因子としても注目されている。なお、非腫瘍性および腫瘍性の胆管上皮にこれらのサイトカインに対する受容体の存在することが知られている²³⁾。そして、IL6, $\text{TNF}\alpha$ などの炎症性サイトカインが、腫瘍細胞の細胞膜で発現するそれぞれの受容体と結合し、これに関連する細胞内刺激伝達系に関連して上述した内因性因子である COX2,

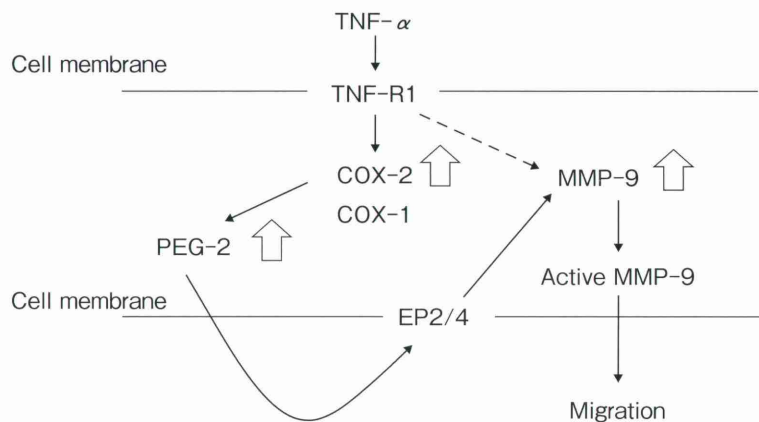


図5 TNF α と胆道癌の分子機序

TNF α はその受容体 TNF-R1 を介して、COX2 の産生、プロスタグランジン E2 (PGE2) の産生を誘導し、MMP9 の活性化を誘導し、癌細胞の遊走を来す。EP は、PGE2 の受容体。

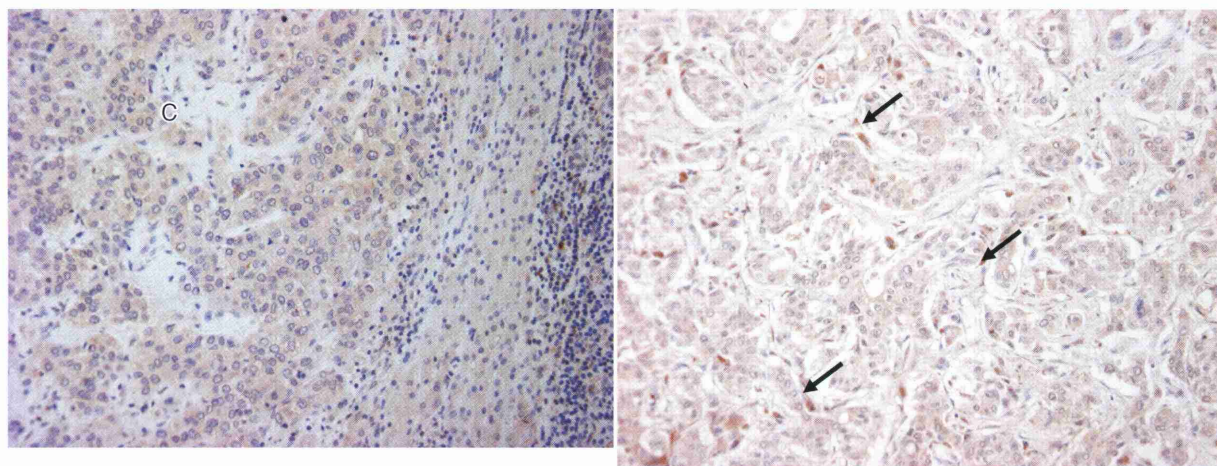


図6 胆道癌 (C) は CXCR4 を発現する (a)。また、胆道癌周囲の炎症細胞、間質細胞には SDF1 (→) の発現がみられる (b)。:免疫染色。

MMP, PGE2 およびこれに関連する酵素が分泌され、胆道癌の進展に関連することが示されている^{4,17,18,23}。さらに、腫瘍化、癌化した胆管上皮自身から、これらのサイトカインが分泌され、オートクラインあるいはパラクラインの機序により、胆道癌細胞自身に影響をおよぼす。

TNF α と胆管癌：慢性の胆道障害局所で産生、分泌される TNF α が胆管癌発生のリスク因子であり、さらに胆管癌の間質に浸潤する炎症細胞からの TNF α も胆管癌の進展に深く関係することが次第に明らかとなりつつある^{17,18,20}。胆道癌の進展部にしばしば TNF α 産生のマクロファージや単核細胞がみられ (図3)、さらに癌周辺組織内や癌巣内の単核細胞内でも産生される。なお、少数の癌細胞自身も TNF α の産生を示すが、周囲の単核細胞に較べ少ない。また胆道癌細胞には TNF α 受容体 (TNFR)、特に TNFR1 の発現がみら

れる。TNF α /TNFR1 を介して、そのシグナルが細胞内へと伝達され、NF κ B を介して Erk1/2 および p38MAPK をリン酸化し、この結果として胆道癌細胞での MMP9, COX2, PGE2 等の生理学的活性物質の産生を誘導するとされている。そして、これらの内因性生理学的活性物質が胆道癌の進展に深く関係することが報告されている。

さらに、TNF α は胆道癌細胞での COX2 および MMP9 の産生を誘導する¹⁷。COX2 と MMP9 の産生は、同一の胆道癌細胞でみられ (図4)、胆道癌細胞より分泌された MMP9 は、胆道癌細胞の遊走や浸潤に関連する。炎症局所で発生する酸化ストレスに関連して活性化酸素や NO の発生があり、これらが胆管上皮の傷害、さらには胆管上皮の腫瘍化、DNA の異常、血管新生、COX2 の誘導に深く関連していることが知られている⁴。COX2 は腫瘍の増殖や浸潤に深く関連

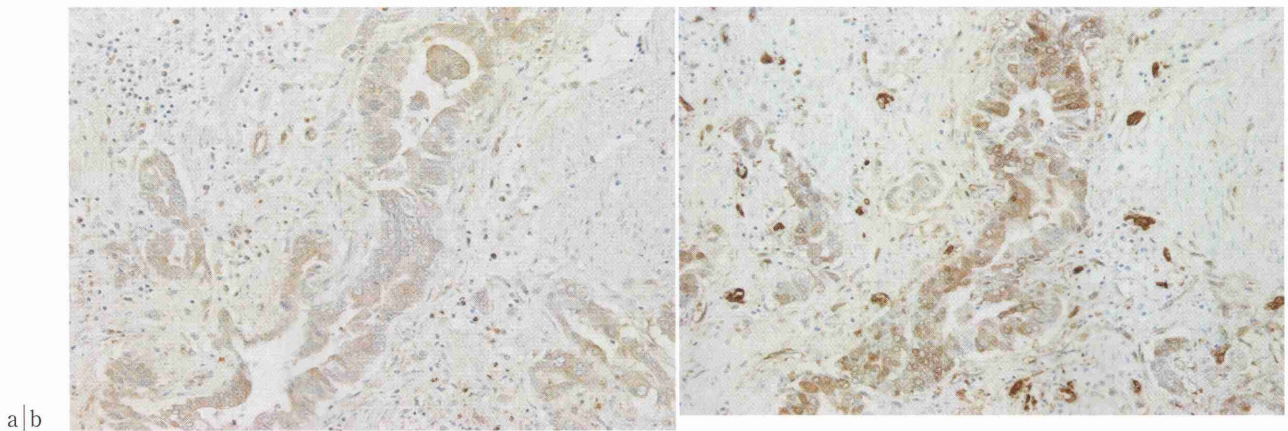


図 7 胆道癌には MMP9 の発現がみられ (a), また同一の細胞に fascin の発現がみられる (b)。免疫染色

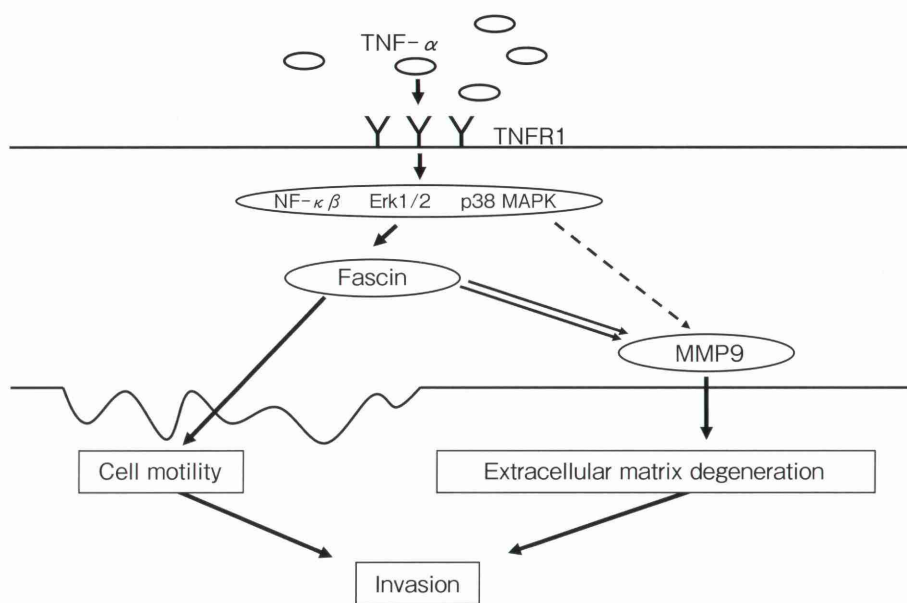


図 8 TNF α と胆道癌の分子機序

TNF α はその受容体 TNF-R1 と反応し、NF- κ B、Erk1/2、p38MAPK を介して、fascin の活性化、そして細胞の運動能の亢進を来す。また、MMP9 の産生を誘導し、細胞外基質を破壊し、癌細胞の遊走を引き起こす。

しており、COX2はアラキドン酸からプロスタグランジン産生に関わり、さまざまな成長因子やサイトカイン、発癌因子により誘導され、腫瘍血管増生や血管新生の促進、アポトーシスの阻害、腫瘍細胞の転移や浸潤の促進の抑制に関わることが知られている(図5)。プロスタグランジンは内因性腫瘍促進因子として知られており、胆道癌の発生や進展に深く関連している。COX2およびプロスタグランジンは胆道癌の発生、進展に深く関連することが知られている¹⁷⁾。TNF α は胆道癌でのCOX2やプロスタグランジンの産生を誘導することが知られている。

最近、ケモカインが癌の浸潤、遊走に関係することが注目されており、その中でCXCケモカインである

stromal cell-derived factor (SDF) 1は特異的なレセプタであるCXCR4と反応する。癌細胞はその表面に発現するCXCR4を発現し、これがSDF1と反応することにより、癌細胞が浸潤、遊走を示すことが知られている²³⁾。胆道癌の線維化部で線維芽細胞がSDF1を産生することが知られており、また胆道癌細胞はCXCR4を発現することも知られている(図6)。これらのことから胆道癌では線維性間質で産生されたSDF-1が胆道癌細胞で発現されるCXCR4と結合し、胆道癌細胞の遊走を誘導すると考えられる。そして、注目すべき所見として、TNF α が培養胆道癌細胞でのCXCR4の発現を増強させ、TNF α の添加によりSDF1/CXCR4の結合を介した胆道癌細胞の遊走、浸

潤が増強することが示された²³⁾。これらの所見から、胆道癌の間質、浸潤部あるいは慢性胆管傷害部での炎症性細胞から分泌される TNF α が、CXCR4/SDF1を介した胆道癌の遊走を増強させていることが示唆される。

Fascin は、アクチン線維からなる分子で、食道癌や胃癌、大腸癌などの癌部で異常発現しており、癌の予後不良因子の一つとして注目されている。Fascin は腫瘍細胞の遊走に深く関連し、その作用過程で MMP2 や MMP7 が関与することが知られている。胆道癌でも、fascin と MMP9 の発現は同一の癌細胞にみられることが多く (図 7)、また TNF α は、主に TNFR1 を介して、胆道癌での fascin の産生に深く関連し、胆道癌の遊走や浸潤に深く関連し、さらに fascin が活性化型 MMP9 の産生、分泌を促進し、fascin が関連する胆道癌の浸潤に関連することが報告されている (図 8)¹⁸⁾。

IL-6 と胆管癌: Mayo グループを中心とした最近の多くの研究により、慢性の胆道障害局所で産生、分泌される炎症性サイトカインである IL6 が胆管癌発生の重大なリスク因子であり、さらに胆管癌自身が過剰に産生する IL6 も主にオートクラインの機序により胆管癌細胞に作用し、胆管癌の発生、進展に中心的な役割を演ずることが明らかとなりつつある^{4,27)}。つまり、IL6 は、胆道癌細胞の IL6 受容体と結合し、胆道癌での細胞増殖や浸潤に関連する遺伝子発現に関連することが報告されている²⁸⁾。特に、細胞の増殖に深く関連する p38MAPK を活性化し、さらにこのシグナル系により Bcl-2 ファミリーの中で抗アポトーシス活性を有する Mcl-1 を活性化し、結果として胆管癌細胞の増殖が生ずる。さらに、IL6 が SOCS-3 を抑止し、結果としてサイレンス化が持続的な IL-6/STAT-3 のシグナル伝達、そして Mcl-1 の発現に関連することが知られている。このシグナル系には microRNA-370 も関与しており IL-6 はこの microRNA の発現に関連する²⁷⁾。IL6 は、STAT 系の活性化に深く関係しており、この STAT 系関連分子は、一般的にはサイトカインや増殖因子の重要なシグナル伝達に関与しており、癌にみられるアポトーシス、増殖、分化や血管新生に関連することが知られており、IL6 は胆管癌にみられるこれらの生物学的特性に深く関連する。また、IL6 は、TGF β と拮抗することが知られているが、胆管癌では TGF β 活性が低下しており、このことも胆管癌での IL6 の作用の影響がさらに強く発揮される一因となっている。IL-6 は、DNA のメチルトランスフェラーゼの制御に関連し、発癌に関連する重要な遺伝子のメチル化に関連していることが報告されている⁴⁾。胆管癌では、JAK/STAT 系が胆管癌のアポトーシスに対する抵抗

性に関連する刺激伝達系であることが知られている。また、胆道癌患者では血中 IL6 の上昇も知られており、これを標的とした分子標的治療も検討されている²⁸⁾。このように IL6 は、胆道癌の種々の生物学的作用、悪性度に深く関係していることが次第に明らかとなりつつある²⁹⁾。

ま と め

胆道癌は予後不良の悪性腫瘍であり、早期発見と外科的切除が、現在、胆道癌の唯一の根治的治療法であるが、術後の再発、あるいは診断時、手術不能例が多い。胆道癌の発癌および進展の分子機構、遺伝子機構を正確に理解し、癌細胞と周囲組織との相互作用、血管新生や浸潤、転移のプロセスを分子レベルで解析し、これらに関連する各種の内因性の因子やこれらの分子を標的とした治療法の確立と臨床応用が今後の重要な癌戦略となると期待される。特に、胆道癌内外で産生される炎症性サイトカインである TNF α と IL6 が内因性因子である MMP9, PGE2, さらに COX2 の分泌に深く関連している。

参 考 文 献

- 1) 中沼安二, 原田憲一, 木村 康, ほか: 胆道癌の病理診断. 消外 32 : 1715-1725, 2009.
- 2) 中沼安二, 佐々木素子, 山口純平, ほか: 胆道癌のポイント (総論) と最近のトピックス. 臨画像 24 : 1076-1087, 2008.
- 3) Nakanuma Y, Harada K, Ishikawa A, et al : Anatomic and molecular pathology of intrahepatic cholangiocarcinoma. J Hepatobiliary Pancreat Surg 10 : 265-281, 2003.
- 4) Malhi H, Gores GJ : Cholangiocarcinoma : modern advances in understanding a deadly old disease. J Hepatol 45 : 856-867, 2006.
- 5) Blechacz BR, Smoot RL, Bronk SF, et al : Sorafenib inhibits signal transducer and activator of transcription-3 signaling in cholangiocarcinoma cells by activating the phosphatase shatterproof 2. Hepatology 50 : 1861-1870, 2009.
- 6) Sirica AE : Cholangiocarcinoma : molecular targeting strategies for chemoprevention and therapy. Hepatology 41 : 5-15, 2005.
- 7) Yamaguchi J, Sasaki M, Sato Y, et al : Histone deacetylase inhibitor (SAHA) and repression of EZH2 synergistically inhibit proliferation of gallbladder carcinoma. Cancer Sci 101 : 355-362, 2010.
- 8) 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.
- 9) Zen Y, Sasaki M, Fujii T, et al. : Different expression patterns of mucin core proteins and cytokeratins during intrahepatic cholangiocarcinogenesis from biliary intraepithelial neoplasia and intraductal papillary neoplasm of the bile duct—an immunohistochemical study of 110 cases of hepatolithiasis. *J Hepatol* **44** : 350-358, 2006.
 - 10) Chen TC, Nakanuma Y, Zen Y, et al. : Intraductal papillary neoplasia of the liver associated with hepatolithiasis. *Hepatology* **34** : 651-658, 2001.
 - 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) Nakanuma Y, Terada T, Tanaka Y, et al. : Are hepatolithiasis and cholangiocarcinoma aetiologically related? A morphological study of 12 cases of hepatolithiasis associated with cholangiocarcinoma. *Virchows Arch A Pathol Anat Histopathol* **406** : 45-58, 1985.
 - 13) 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.
 - 14) 日本胆道外科研究会編 : 外科・病理 胆道癌取扱い規約, 第5版, 金原出版, 2003.
 - 15) 日本肝癌研究会編 : 臨床・病理 原発性肝癌取扱い規約, 第5版, 金原出版, 2009.
 - 16) Miwa S, Miyagawa S, Soeda J, et al. : Matrix metalloproteinase-7 expression and biologic aggressiveness of cholangiocellular carcinoma. *Cancer* **94** : 428-434, 2002.
 - 17) Itatsu K, Sasaki M, Yamaguchi J, et al. : Cyclooxygenase-2 is involved in the up-regulation of matrix metalloproteinase-9 in cholangiocarcinoma induced by tumor necrosis factor- α . *Am J Pathol* **174** : 829-841, 2009.
 - 18) Onodera M, Zen Y, Harada K, et al. : Fascin is involved in tumor necrosis factor- α -dependent production of MMP9 in cholangiocarcinoma. *Lab Invest* **89** : 1261-1274, 2009.
 - 19) Schmitz KJ, Lang H, Wohlschlaeger J, et al. : Elevated expression of cyclooxygenase-2 is a negative prognostic factor for overall survival in intrahepatic cholangiocarcinoma. *Virchows Arch* **450** : 135-141, 2007.
 - 20) Tanimura Y, Kokuryo T, Tsunoda N, et al. : Tumor necrosis factor alpha promotes invasiveness of cholangiocarcinoma cells via its receptor, TNFR2. *Cancer Lett* **219** : 205-213, 2005.
 - 21) Itatsu K, Zen Y, Yamaguchi J, et al. : Expression of matrix metalloproteinase 7 is an unfavorable postoperative prognostic factor in cholangiocarcinoma of the perihilar, hilar, and extrahepatic bile ducts. *Hum Pathol* **39** : 710-719, 2008.
 - 22) Itatsu K, Sasaki M, Harada K, et al. : Phosphorylation of extracellular signal-regulated kinase 1/2, p3mitogen-activated protein kinase and nuclear translocation of nuclear factor- κ B are involved in upregulation of matrix metalloproteinase-9 by tumour necrosis factor- α . *Liver Int* **29** : 291-298, 2009.
 - 23) Ohira S, Sasaki M, Harada K, et al. : Possible regulation of migration of intrahepatic cholangiocarcinoma cells by interaction of CXCR4 expressed in carcinoma cells with tumor necrosis factor- α and stromal-derived factor-1 released in stroma. *Am J Pathol* **168** : 1155-1168, 2006.
 - 24) Valle JW, Wasan H, Johnson P, et al. : Gemcitabine alone or in combination with cisplatin in patients with advanced or metastatic cholangiocarcinomas or other biliary tract tumours : a multicentre randomised phase II study- The UK ABC-01 Study. *Br J Cancer* **101** : 621-627, 2009.
 - 25) Sasaki M, Yamaguchi J, Itatsu K, et al. : Over-expression of polycomb group protein EZH2 relates to decreased expression of p16 INK4a in cholangiocarcinogenesis in hepatolithiasis. *J Pathol* **215** : 175-183, 2008.
 - 26) Ishikawa A, Sasaki M, Sato Y, et al. : Frequent p16ink4a inactivation is an early and frequent event of intraductal papillary neoplasm of the liver arising in hepatolithiasis. *Hum Pathol* **35** : 1505-1514, 2004.
 - 27) Meng F, Wehbe-Janek H, Henson R, et al. : Epigenetic regulation of microRNA-370 by interleukin-6 in malignant human cholangiocytes. *Oncogene* **27** : 378-386, 2008.
 - 28) Mott JL, Gores GJ : Targeting IL-6 in cholangiocarcinoma therapy. *Am J Gastroenterol* **102** : 2171-2172, 2007.
 - 29) Isomoto H, Mott JL, Kobayashi S, et al. : Sustained IL-6/STAT-3 signaling in cholangiocarcinoma cells due to SOCS-3 epigenetic silencing. *Gastroenterology* **132** : 384-396, 2007.

* * *