

原

著

肝内胆管癌における Vimentin の発現と術後遠隔成績

森本 悠太

新潟大学大学院医歯学総合研究科
 消化器・一般外科学分野（第一外科）
 （主任：若井俊文教授）

Long - term Results of Postresectional Survival and Vimentin Expression in Patients with Intrahepatic Cholangiocarcinoma

Yuta MORIMOTO

*Division of Digestive and General Surgery, Niigata University Graduate School of
 Medical and Dental Sciences
 (Director: Prof. Toshifumi WAKAI)*

要 旨

【緒言】 Vimentin は間葉系細胞に特有な中間径フィラメントである。Vimentin は細胞表面から核への機械的形質導入，細胞間接着や細胞分裂などの細胞周期に関係している。すでに Vimentin 発現陽性は乳腺，結腸の悪性腫瘍において腫瘍細胞の転移と浸潤を促進すると報告されている。上皮細胞の転移/浸潤能獲得に間葉系の特徴の獲得と上皮系の特徴の消失が関連するという概念を支持する根拠が示されつつあり，この現象は Epithelial - Mesenchymal Transition (上皮間葉移行；EMT) と呼ばれている。腫瘍細胞における Vimentin 発現陽性は EMT の存在を示唆し，肺癌，腎癌，胃癌では Vimentin 発現陽性が独立した予後予測因子であるといわれている。本研究の目的は，肝内胆管癌切除標本における Vimentin 発現を後方視的に評価・分析し，肝内胆管癌における Vimentin 発現が切除後の遠隔成績に与える影響を明らかにすることである。

【材料と方法】 1992 年 1 月から 2012 年 12 月までに新潟大学医歯学総合病院で切除を施行された連続する 44 例を対象とした。1 例は扁平上皮癌であったため除外した。残りの 43 例は男性 30 例，女性 13 例で，年齢の中央値は 67 歳（31 - 82 歳）であった。年齢，性別，Cytokeratin 7 発現，深達度，リンパ節転移，遠隔転移，最終病期，最大腫瘍径，組織学的グレード，腫瘍遺残，術

Reprint requests to: Yuta MORIMOTO
 Division of Digestive and General Surgery,
 Niigata University Graduate School of Medical
 and Dental Sciences,
 1 - 757 Asahimachi - dori, Chuo - ku,
 Niigata 951 - 8510, Japan.

別刷請求先：〒951 - 8510 新潟市中央区旭町通 1 - 757
 新潟大学大学院医歯学総合研究科消化器・
 一般外科学分野（第一外科） 森本 悠太

前補助化学療法, 術後補助化学療法の12項目について Vimentin 発現陽性と関連する因子を検討した。

【結果】11例が Vimentin 発現陽性であり, 32例が Vimentin 発現陰性であった。Vimentin 発現陽性は組織学的グレードとのみ有意な関連を認めた ($P = 0.043$)。Vimentin 発現陽性例は組織学的グレード1 (高分化型; G1) には認めず (0/10; 0%), 組織学的グレード2, 3 (中低分化型: G2-3) には認められた (11/33; 33%)。全累積生存率は5年で43.8%であり, 生存期間の中央値は22か月であった。単変量解析では, 遠隔転移 ($P = 0.001$), リンパ節転移 ($P = 0.002$), 腫瘍遺残 ($P = 0.014$), Vimentin 発現 ($P = 0.016$), 最大腫瘍径 ($P = 0.022$), T 因子 ($P = 0.038$) が有意に術後長期生存と関連していた。Vimentin 発現陰性群の5年累積生存率33.4% (生存期間中央値65.6か月) と比較して, Vimentin 発現陽性群の5年累積生存率は12.5% (生存期間中央値14.2か月) であり, Vimentin 発現陽性群の術後遠隔成績は有意に不良であった ($P = 0.016$)。

【結語】肝内胆管癌における Vimentin 発現は, 組織学的グレードと関連し, 切除後の予後不良因子である。

キーワード: 肝内胆管癌, Vimentin, 上皮間葉移行, 予後因子

緒 言

Vimentin は間葉系細胞に特有な中間径フィラメントである¹⁾²⁾。Vimentin は間葉系細胞の特異的マーカーであり, Cytokeratin (CK) 7は上皮系細胞の特異的マーカーである³⁾。Vimentin は細胞表面から核への機械的形質導入, 細胞間接着や細胞分裂などの細胞周期と関係している⁴⁾⁵⁾。すでに乳腺⁶⁾⁷⁾, 結腸⁷⁾, 前立腺⁸⁾の悪性腫瘍において Vimentin 発現陽性は腫瘍細胞の転移と浸潤を促進するとの報告がなされている。上皮細胞の転移/浸潤能獲得は間葉系の特徴の獲得と上皮系の特徴の消失と関連するという概念を支持する根拠が示されつつあり, この現象は Epithelial-Mesenchymal Transition (上皮間葉移行; EMT) と呼ばれている⁹⁾¹⁰⁾。EMT は1980年代初めに Hay らによって提唱された上皮細胞が間葉系様細胞に形態変化する現象であり, 現在は発生に関与する群, 創傷治癒・線維化に関与する群, 癌の浸潤・転移に関与する群の3群に分類されている¹¹⁾。

腫瘍細胞における Vimentin 発現陽性は EMT の存在を示唆し, 肺癌, 腎癌, 胃癌では Vimentin 発現陽性が独立した予後予測因子であるといわれている¹²⁾⁻¹⁴⁾。本研究の目的は, 肝内胆管癌切除

標本における Vimentin 発現を後方視的に評価・分析し, 肝内胆管癌における Vimentin 発現陽性が切除後の遠隔成績に与える影響を明らかにすることである。

材料と方法

1. 検討対象

1992年1月から2012年12月までに当科で切除を施行された肝内胆管癌症例の連続する44例を対象とした。1例は扁平上皮癌であったため除外した。残りの43例は男性30例, 女性13例で, 年齢の中央値は67歳(31-82歳)であった。術前補助化学療法は, Gemcitabine, Gemcitabine + TS-1, Gemcitabine + CDDP + TS-1, TS-1, 経動脈的塞栓療法が各1例ずつ施行され, 療法術後補助化学療法は, 3例に経口5-FU製剤, 8例に Gemcitabine, 3例に Gemcitabine + TS-1, 4例に Gemcitabine + Cisplatin, 2例に Gemcitabine → TS-1 が施行された。術後放射線療法を行われた例は存在しなかった。観察期間の中央値は44.9か月(1-230か月)であった。症例評価の時点で23人が原病死し, 6例が他病死, 11例が無再発生存中, 3例が再発生存中であった。

2. 病理組織学的検索

切除標本における最大腫瘍径、リンパ節転移、遠隔転移、組織学的グレード分類、腫瘍遺残判定を病理組織学的に行った。病理組織学的所見、病期は UICC TNM classification 7th edition¹⁵⁾ に準拠した。全例が腺癌であり最大腫瘍径の中央値は 4.0 cm (1.8-7.2 cm) であった。領域リンパ節転移は 15 例に認めた。組織学的グレードは腫瘍で最もグレードの高い (分化度の低い) 領域のものとし、グレード 1 が 10 例、グレード 2 が 16 例、グレード 3 が 17 例であった。3 例に傍大動脈リンパ節転移、3 例に腹膜播種を認め、遠隔転移と診断された。腫瘍遺残は 10 例に認めた。最終病期は Stage I 13 例、Stage II 11 例、Stage III 2 例、Stage IV A 11 例、Stage IV B 6 例であった。

免疫組織化学的検索にはパラフィン包埋ブロック (1-3 個、中央値 2 個) から 3 μ m の連続組織切片を 4 枚作製し、1 枚は HE 染色、2 枚はそれぞれ Vimentin モノクローナル抗体 (clone V9, 1:500 dilution; Dako, Glostrup, Denmark), CK7 モノクローナル抗体 (clone OV-TL12/30, 1:100 dilution, Dako) を用いた免疫組織化学染色を行い、1 枚は negative control とした。

正常肝組織において Vimentin は門脈内皮細胞、繊維中隔、Kupffer 細胞を含む間葉系細胞に強陽

性であり¹⁶⁾、非癌部の胆管上皮では細胆管反応部と葉間胆管の細胞質にしばしば陽性であった¹⁷⁾。標本における Vimentin 発現の評価は、腫瘍細胞に全く発現がみられないものを陰性とし、1 つの腫瘍細胞または細胞集塊に発現がみられたものを陽性とした (図 1)。

3. 統計学的解析

年齢、性別、CK7 発現、T 因子、リンパ節転移、遠隔転移、最終病期、最大腫瘍径、組織学的グレード、腫瘍遺残、術前補助化学療法、術後補助化学療法の 12 項目について Vimentin 発現陽性と関連する因子を検討した。年齢、最大腫瘍径のカットオフ値はそれぞれのデータの中央値を元に設定した。統計学的検討は、PASW statistics 17 software package (SPSS Japan Inc. Tokyo, Japan) を用いて行った。2 群間における頻度検定には Fisher の直接確率法、Pearson の χ^2 検定を用いた。観察期間は切除から最終の経過観察日までとし、他病死は観察打ち切り例として扱った。累積生存率を評価するために Kaplan-Meier 法を用い、log-rank test で評価した。いずれの検定においても両側 P 値 < 0.05 を統計学的に有意差ありと判定した。

結 果

1. 切除術式

術式の内訳は肝左葉切除 7 例 (肝外胆管切除例 6 例)、拡大肝左葉切除 16 例 (同 13 例)、肝左 3 区域切除術 4 例 (同 4 例)、肝右葉切除術 2 例 (同 0 例)、拡大肝右葉切除術 6 例 (同 6 例)、肝右 3 区域切除術 1 例 (同 1 例)、肝中央区域切除術 1 例 (同 1 例)、肝後区域切除術 2 例 (同 0 例)、その他の肝切除術 4 例 (同 0 例) であり、4 例に門脈切除再建術、1 例に下大静脈合併切除再建、1 例に門脈・肝動脈切除再建が行われた。全例に術中エコーが行われ、肝切離は 15 分絞扼、5 分解放法を用い CUSA で行われた。43 例全例に領域リンパ節の一括切除が施行された。

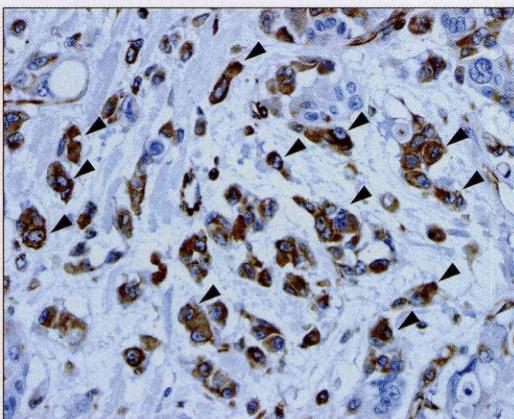


図 1 低分化型 (グレード 3) 肝内胆管癌における Vimentin 発現陽性
Vimentin 発現陽性の腫瘍細胞を認める (矢頭, $\times 400$)

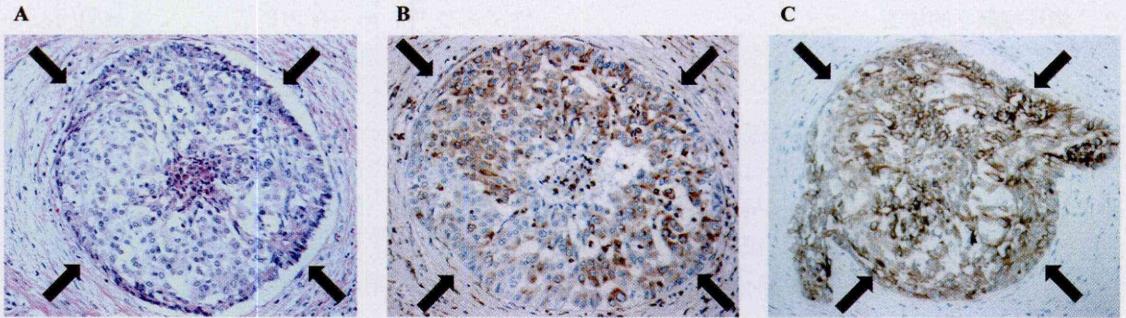


図2 間葉系マーカーである Vimentin と上皮系マーカーである CK7 が共発現
矢印は腫瘍細胞を示す。

A : HE 染色. B : Vimentin 免疫染色. C : CK7 免疫染色 (×300)

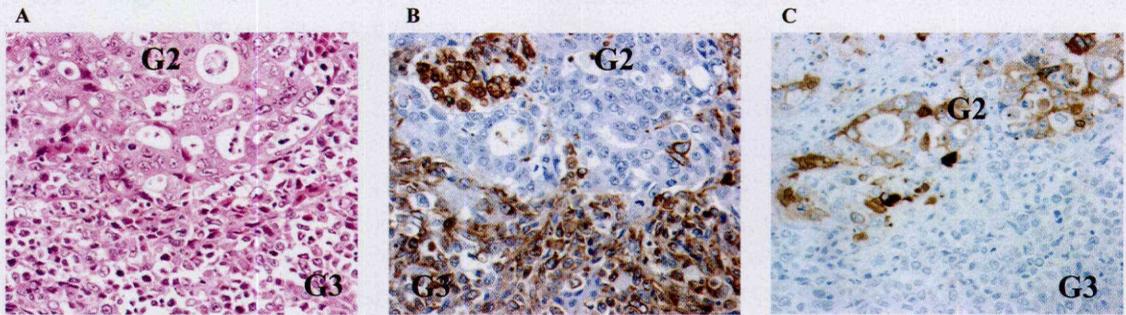


図3 上皮系マーカーである CK7 発現が消失し Vimentin 発現陽性

A : HE 染色, 上半分は中分化型腺癌 (グレード2 : G2) であり, 下半分は低分化型腺癌 (グレード3 : G3) であった。

B : Vimentin 免疫染色, 上半分は Vimentin 発現陰性であり下半分は Vimentin 発現陽性であった。

C : CK7 免疫染色, 上半分は CK7 発現陽性であり下半分は CK7 発現陰性であった。(×400)

2. 合併症・周術期死亡

術後合併症は入院期間の延長を要したすべての合併症とし、26例(60.5%)に認めた。周術期死亡は手術目的の入院中に起きたすべてのものとし、2例(4.7%)に認めた。

3. 腫瘍細胞において Vimentin 発現と関連する因子

11例が Vimentin 発現陽性であり、32例が陰性であった。Vimentin 発現陽性の11例中10例に

CK7 が共発現しており (図2), 1例は CK7 の発現を認めなかった (図3)。Vimentin 発現陽性は組織学的グレードとのみ有意な関連を認めた ($P = 0.043$; 表1)。Vimentin 発現陽性例は組織学的グレード1群には認めず (0/10; 0%), 組織学的グレード2, 3群にのみ認められた (11/33; 33%), そのうち9例はもっとも組織学的グレードが高い部分に Vimentin が発現していたが、2例はグレードが低い部分 (高分化型腺癌部分) に発現していた (図4)。

表 1 腫瘍細胞における Vimentin 発現と関連する因子

項目	症例数		P 値
	Vimentin 陰性例	Vimentin 陽性例	
年齢 (<65/≥65 歳)	15/17	3/8	0.309
性別 (男/女)	21/11	9/2	0.456
CK7 (陰性/陽性)	5/27	1/10	0.676
T 因子 (T1-pT2/pT3-pT4)	27/5	9/2	>0.999
リンパ節転移 (pN0/pN1)	20/12	8/3	0.719
遠隔転移 (pM0/pM1)	27/5	10/1	0.676
TNM 病期分類 (I-II/III-IV)	17/15	7/4	0.728
腫瘍径 (<5cm/≥5cm)	22/10	7/4	>0.999
組織学的グレード (G1/G2-3)	10/22	0/11	0.043
遺残腫瘍 (R0/R1)	26/6	7/4	0.409
術前補助化学療法 (無/有)	28/4	10/1	>0.999
術後補助化学療法 (無/有)	15/17	8/3	0.175

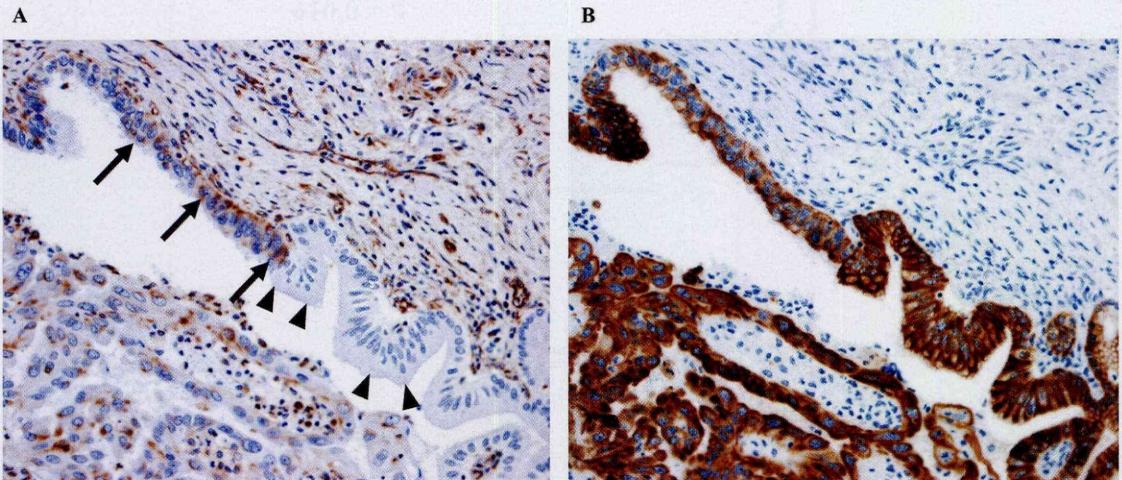


図 4 高分化型 (グレード 1) 腺癌部分に Vimentin 発現陽性

A : 高分化型腺癌部分は Vimentin 発現陽性であった (矢印). 正常胆管上皮は Vimentin 発現陰性であった (矢頭).

B : 高分化型腺癌部分, 正常胆管上皮ともに CK7 発現陽性であった. (× 300)

表2 切除後長期生存に関連する因子

項目	Modality	症例数	5年累積生存率	単変量解析 P 値
T 因子	pT1-pT2	36	53.1%	0.038
	pT3-pT4	7	0.0%	
リンパ節転移	pN0	28	59.7%	0.002
	pN1	15	20.0%	
遠隔転移	pM0	37	51.6%	0.001
	pM1	6	0.0%	
腫瘍径	<5cm	29	60.8%	0.022
	≥5cm	14	0.0%	
腫瘍遺残	R0	33	55.5%	0.014
	R1	10	11.1%	
Vimentin 発現	陰性	32	53.4%	0.016
	陽性	11	12.5%	

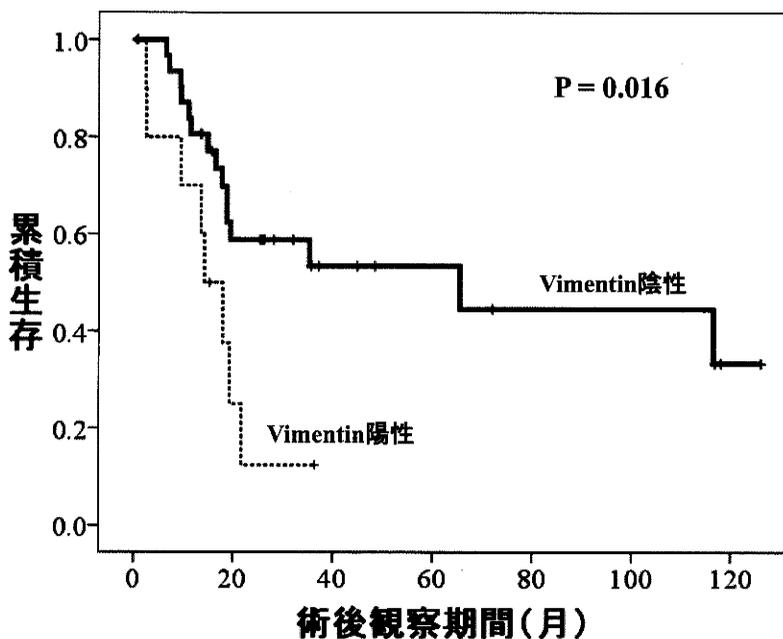


図5 Vimentin 発現別の術後累積生存率

Vimentin 発現陰性群の5年累積生存率33.4% (生存期間中央値65.6か月)と比較して、Vimentin 発現陽性群の5年累積生存率は12.5% (生存期間中央値14.2か月)であり、Vimentin 発現陽性群の術後遠隔成績は有意に不良であった (P = 0.016)。

4. 術後遠隔成績に影響を与える因子の解析

全累積生存率は5年で43.8%であり、生存期間の中央値は22か月であった。単変量解析では、T因子 ($P = 0.038$)、リンパ節転移 ($P = 0.002$)、遠隔転移 ($P = 0.001$)、腫瘍遺残 ($P = 0.014$)、最大腫瘍径 ($P = 0.022$)、Vimentin 発現 ($P = 0.016$) が有意に術後長期生存と関連していた (表 2)。

5. Vimentin 発現陽性が術後累積生存率に与える影響

Vimentin 発現陰性群の5年累積生存率は33.4%、生存期間中央値は65.6か月であった。一方、Vimentin 発現陽性群の5年累積生存率は12.5%、生存期間中央値14.2か月であり、Vimentin 発現陽性群の術後遠隔成績は有意に不良であった ($P = 0.016$; 図 5)。Vimentin 発現陽性であった11例中8例が術後22か月以内に再発により原病死していた。

考 察

上皮細胞の転移、浸潤に果たす Vimentin 発現陽性の役割は種々の悪性腫瘍で報告されており^{6)–8)}、過去の報告では Vimentin 発現陽性の肝内胆管癌の術後成績は不良であったとされている^{18)–23)}。本研究では、間葉系マーカーとして Vimentin、上皮系マーカーとして CK7 を用いて、肝内胆管癌切除例 43 例における生存解析を行った結果、Vimentin 発現は組織学的グレードと関連し、切除後の予後因子であることを明らかにした。

上皮性腫瘍における組織学的グレードと Vimentin 発現との関連性に関しては、肺癌、咽頭癌、乳癌、膀胱癌で報告されている^{12)14)24)–27)}。過去の報告では、肝内胆管癌細胞において Vimentin 発現陽性となる例があることが報告されている^{18)–23)28)–32)}。本研究では、43 例中 11 例 (25.6%) が Vimentin 発現陽性であり、Vimentin 発現は組織学的グレードと有意に関連していた。Vimentin 発現陽性例 11 例中 9 例に最も組織学的グレードが高い部分 (低分化型成分) での Vimentin 発現を認めた。最も組織学的グレードが高い部分に

Vimentin 発現陽性の細胞が認められ、Vimentin 発現を認めない組織学的グレードが低い部分が共存する場合、Vimentin 発現陽性が腫瘍細胞の脱分化を反映していると考えられた。

Hendrix らは、乳癌細胞における Vimentin、CK の共発現は脱分化または上皮系から間葉系への移行を示唆し、細胞外 Matrix との相互作用に選択的優位性を与え、浸潤・転移と関連すると報告している⁶⁾。一方、Paccione らは、CK、Vimentin の共発現を認める腫瘍細胞において、Vimentin 発現を抑制することで、腫瘍細胞の増殖・浸潤抑制が認められたと報告している³³⁾。本研究では Vimentin 発現陽性例 11 例のうち 10 例に Vimentin、CK7 の共発現を認め、うち 7 例が腫瘍再発によって原病死していた。本研究で認められた CK7、Vimentin 共発現の腫瘍細胞が高い転移・浸潤能を持っていた可能性があると考えられた。

我々の以前の研究では、肝内胆管癌における Vimentin 発現陽性はもっとも組織学的グレードが高い部分 (低分化型成分) に認められたが³⁴⁾、本研究では Vimentin 発現陽性であった 11 例中 2 例に組織学的グレードが低い部分 (高分化型成分) で Vimentin 発現陽性を認めた。過去の報告では、Vimentin、CK7 の共発現は、進行中もしくは部分的な EMT を構成する要素である可能性がある³⁵⁾³⁶⁾、2 例に認められた組織学的グレードが低い部分 (高分化型成分) での Vimentin、CK7 の共発現は、ごく初期段階の EMT を示唆している可能性、または発生時から上皮系・間葉系両方の性質を持つ腫瘍細胞である可能性を示す所見と考えられた。

1993 年に Nakajima らは、Vimentin 発現陽性の肝内胆管癌は予後不良であり、それは腫瘍の生物学的に高い攻撃性によると報告している¹⁸⁾。過去の報告 (7 編) によれば、肝内胆管癌における Vimentin 発現陽性例は予後不良であり、13 例中 9 例が 2 年以内に死亡していた^{18)–23)28)}。近年では、肝内胆管癌における Vimentin 発現陽性は予後不良因子であることが報告されており³⁷⁾³⁸⁾、同様の結果が本研究でも得られた。

本研究の限界としては、後ろ向き研究であるこ

と、症例数が少ない(43例)ことが挙げられる。しかしながら、本研究においては群間であまりに顕著な差を認めたことから、これらのバイアスが結果に大きな影響を与えていないと判断した。

結 論

肝内胆管癌における Vimentin 発現は、組織学的グレードと関連し、切除後の予後不良因子である。

謝 辞

稿を終えるにあたり、御指導を賜りました新潟大学大学院医歯学総合研究科消化器・一般外科学分野、若井俊文教授、同分子診断病理学分野、味岡洋一教授に深謝いたします。

文 献

- 1) Steinert PM and Roop DR: Molecular and cellular biology of intermediate filaments. *Annu Rev Biochem* 57: 593 - 625, 1988.
- 2) Oshima RG: Intermediate filaments: a historical perspective. *Exp Cell Res* 313: 1981 - 1994, 2007.
- 3) Herrmann H, Bar H, Kreplak L, Strelkov SV and Aebi U: Intermediate filaments: from cell architecture to nanomechanics. *Nat Rev Mol Cell Biol* 8: 562 - 573, 2007.
- 4) Maniotis AJ, Chen CS and Ingber DE: Demonstration of mechanical connections between integrins, cytoskeletal filaments, and nucleoplasm that stabilize nuclear structure. *Proc Natl Acad Sci USA* 94: 849 - 854, 1997.
- 5) Ivaska J, Pallari HM, Nevo J and Eriksson JE: Novel functions of vimentin in cell adhesion, migration, and signaling. *Exp Cell Res* 313: 2050 - 2062, 2007.
- 6) Hendrix MJ, SefTOR EA, SefTOR RE and Trevor KT: Experimental co-expression of vimentin and keratin intermediate filaments in human breast cancer cells results in phenotypic interconversion and increased invasive behavior. *Am J Pathol* 150: 483 - 495, 1997.
- 7) McInroy L and Maatta A: Down-regulation of vimentin expression inhibits carcinoma cell migration and adhesion. *Biochem Biophys Res Commun* 360: 109 - 114, 2007.
- 8) Zhao Y, Yan Q, Long X, Chen X and Wang Y: Vimentin affects the mobility and invasiveness of prostate cancer cells. *Cell Biochem Funct* 26: 571 - 577, 2008.
- 9) Thiery JP: Epithelial - mesenchymal transitions in tumour progression. *Nat Rev Cancer* 2: 442 - 454, 2002.
- 10) Thompson EW, Newgreen DF and Tarin D: Carcinoma invasion and metastasis: a role for epithelial - mesenchymal transition? *Cancer Res* 65: 5991 - 5995, 2005.
- 11) Raghu K and Robert AW: The basics of epithelial - mesenchymal transition. *J. Clin. Invest.* 119: 1420 - 1428, 2009.
- 12) Al - Saad S, Al - Shibli K, Donnem T, Persson M, Bremnes RM and Busund LT: The prognostic impact of NF - kappaB p105, vimentin, E - cadherin and Par6 expression in epithelial and stromal compartment in non - small cell lung cancer. *Br J Cancer* 99: 1476 - 1483, 2008.
- 13) Kim HL, Seligson D, Liu X, Janzen N, Bui MH, Yu H, Shi T, Beldegrun AS, Horvath S and Figlin RA: Using tumor markers to predict the survival of patients with metastatic renal cell carcinoma. *J Urol* 173: 1496 - 1501, 2005.
- 14) KIM MA, Lee HS, Lee HE, KIM JH, Yang H - K, and Kim WH: Prognostic importance of epithelial - mesenchymal transition - related protein expression in gastric carcinoma. *Histopathology* 54, 442 - 451, 2009.
- 15) Sobin LH, Gospodarowicz MK and Wittekind Ch (eds.): UICC. TNM Classification of Malignant Tumours, 7th edition. New York: John Wiley and Sons, Inc., 2009.
- 16) Nakanuma Y and Kono N: Expression of vimentin in proliferating and damaged bile ductules and interlobular bile ducts in nonneoplastic hepatobiliary diseases. *Mod Pathol* 5: 550 - 554, 1992.
- 17) Kozaka K, Sasaki M, Fujii T, Harada K, Zen Y,

- Sato Y, Sawada S, Minato H, Matsui O and Nakanuma Y: A subgroup of intrahepatic cholangiocarcinoma with an infiltrating replacement growth pattern and a resemblance to reactive proliferating bile ductules: bile ductular carcinoma. *Histopathology* 51: 390 - 400, 2007.
- 18) Nakajima T, Tajima Y, Sugano I, Nagao K, Kondo Y and Wada K: Intrahepatic cholangiocarcinoma with sarcomatous change. Clinicopathologic and immunohistochemical evaluation of seven cases. *Cancer* 72: 1872 - 1877, 1993.
- 19) Shimada M, Takenaka K, Rikimaru T, Hamatsu T, Yamashita Y, Kajiyama K, Taguchi K, Shirabe K and Sugimachi K: Characteristics of sarcomatous cholangiocarcinoma of the liver. *Hepato-gastroenterology* 47: 956 - 961, 2000.
- 20) Matsuo S, Shinozaki T, Yamaguchi S, Takami Y, Obata S, Tsuda N and Kanematsu T: Intrahepatic cholangiocarcinoma with extensive sarcomatous change: report of a case. *Surg Today* 29: 560 - 563, 1999.
- 21) Kaibori M, Kawaguchi Y, Yokoigawa N, Yanagida H, Takai S, Kwon AH, Uemura Y and Kamiyama Y: Intrahepatic sarcomatoid cholangiocarcinoma. *J Gastroenterol* 38: 1097 - 1101, 2003.
- 22) Lim BJ, Kim KS, Lim JS, Kim MJ, Park C and Park YN: Rhabdoid cholangiocarcinoma: a variant of cholangiocarcinoma with aggressive behavior. *Yonsei Med J* 45: 543 - 546, 2004.
- 23) Tsou YK, Wu RC, Hung CF and Lee CS: Intrahepatic sarcomatoid cholangiocarcinoma: clinical analysis of seven cases during a 15-year period. *Chang Gung Med J* 31: 599 - 605, 2008.
- 24) van der Velden LA, Schaafsma HE, Manni JJ, Ruiter DJ, Ramaekers FC and Kuijpers W: Cytokeratin and vimentin expression in normal epithelium and squamous cell carcinomas of the larynx. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 254: 376 - 383, 1997.
- 25) Thomas PA, Kirschmann DA, Cerhan JR, Folberg R, Seftor EA, Sellers TA and Hendrix MJ: Association between keratin and vimentin expression, malignant phenotype, and survival in postmenopausal breast cancer patients. *Clin Cancer Res* 5: 2698 - 2703, 1999.
- 26) Korsching E, Packeisen J, Liedtke C, Hungermann D, Wulfing P, van Diest PJ, Brandt B, Boecker W and Buerger H: The origin of vimentin expression in invasive breast cancer: epithelialmesenchymal transition, myoepithelial histogenesis or histogenesis from progenitor cells with bilinear differentiation potential? *J Pathol* 206: 451 - 457, 2005.
- 27) Baumgart E, Cohen MS, Silva Neto B, Jacobs MA, Wotkowicz C, Rieger-Christ KM, Biolo A, Zeheb R, Loda M, Libertino JA and Summerhayes IC: Identification and prognostic significance of an epithelial-mesenchymal transition expression profile in human bladder tumors. *Clin Cancer Res* 13: 1685 - 1694, 2007.
- 28) Sasaki M, Nakanuma Y, Nagai Y and Nonomura A: Intrahepatic cholangiocarcinoma with sarcomatous transformation: an autopsy case. *J Clin Gastroenterol* 13: 220 - 225, 1991.
- 29) Imazu H, Ochiai M and Funabiki T: Intrahepatic sarcomatous cholangiocarcinoma. *J Gastroenterol* 30: 677 - 682, 1995.
- 30) Honda M, Enjoji M, Sakai H, Yamamoto I, Tsuneyoshi M and Nawata H: Case report: intrahepatic cholangiocarcinoma with rhabdoid transformation. *J Gastroenterol Hepatol* 11: 771 - 774, 1996.
- 31) Sato K, Murai H, Ueda Y and Katsuda S: Intrahepatic sarcomatoid cholangiocarcinoma of round cell variant: a case report and immunohistochemical studies. *Virchows Arch* 449: 585 - 590, 2006.
- 32) Sumiyoshi S, Kikuyama M, Matsubayashi Y, Kageyama F, Ide Y, Kobayashi Y and Nakamura H: Carcinosarcoma of the liver with mesenchymal differentiation. *World J Gastroenterol* 13: 809 - 812, 2007.
- 33) Paccione RJ, Miyazaki H, Patel V, Waseem A, Gutkind JS, Zehner ZE and Yeaddall WA: Keratin down-regulation in vimentin-positive cancer cells is reversible by vimentin RNA interference, which inhibits growth and motility. *Mol Cancer Ther* 7: 2894 - 2903, 2014.

- 34) Korita PV, Wakai T, Ajioka Y, Inoue M, Takamura M, Shirai Y and Hatakeyama K: Aberrant expression of vimentin correlates with dedifferentiation and poor prognosis in patients with intrahepatic cholangiocarcinoma. *Anticancer Res* 30: 2279 - 2286, 2010.
- 35) Vongwiwatana A, Tasanarong A, Rayner DC, Melk A and Halloran PF: Epithelial to mesenchymal transition during late deterioration of human kidney transplants: the role of tubular cells in fibrogenesis. *Am J Transplant* 5: 1367 - 1374, 2005.
- 36) Yang J and Weinberg RA: Epithelial - mesenchymal transition: at the crossroads of development and tumor metastasis. *Dev Cell* 14: 818 - 829, 2008.
- 37) Yao X, Wang X, Wang Z, Dai L, Zhang G, Yan Q and Zhou W: Clinicopathological and prognostic significance of epithelial mesenchymal transition - related protein expression in intrahepatic cholangiocarcinoma. *OncoTargets and therapy* 5: 255 - 261, 2012.
- 38) Yong XY, Zhang C, Cai JB, Shi GM, Ke AW, Dong ZR, Zhang PF, Fan J, Peng BG and Zhou J: Comprehensive multiple molecular profile of epithelial mesenchymal transition in intrahepatic cholangiocarcinoma patients. *Plos One* 9 e96860, 2014.

(平成26年9月30日受付)
