담낭암의 조직 및 분자 병리학적 발병 기전

서울대학교 의과대학 서울대학교병원 병리과

이 경 분

Histologic and Molecular Pathogenesis of Gallbladder Cancer

Kyoung-Bun Lee

Department of Pathology, Seoul National University Hospital, Seoul National University College of Medicine, Seoul, Korea

Adenocarcinoma is the major histology of gallbladder cancer. There are three subtypes of adenocarcinoma of the gallbladder: biliary, intestinal, and gastric foveolar subtypes. Also, there are three premalignant lesions of gallbladder adenocarcinoma: adenoma, biliary intraepithelial neoplasia (BillN), and intracystic papillary neoplasm (ICPN). Premalignant lesion is hyperplasia of dysplastic epithelial cells with no evidence of stromal invasion. BillN is invisible in gross inspection but can be microscopically identified around invasive tumor or chronic cholecystitis. ICPN is grossly identified as exophytic polypoid mass or diffuse friable thickening of mucosa and composed of mucinous epithelial cells with papillary and tubular arrangement. Dysplasia of BillN and ICPN is classified by using a three-tiered system and high grade dysplasia is the same group with carcinoma in situ. Adenoma and ICPN have some ambiguities in definition and re-establishment of diagnostic criteria is needed for reproducibility of diagnosis. KRAS, TP53, and CDKN2A are the representative altered molecules in gallbladder cancer. Molecular alteration during dysplasia-carcinoma sequence is too heterogenous depending to the risk factors and type of premalignant lesion to explain the whole process by single process. Over-expression of COX2, mutation of TP53, impairment of mitochondrial DNA were reported in early hyperplastic or metaplastic epithelium. Loss of heterozygosity (LOH) of 3p, 8p chromosomes and amplification of HER2 were reported in low grade dysplasia and LOH of 9p, 18q, 22q, 17p chromosomes and mutation of CDK2A were reported in high grade dysplasia/carcinoma in situ.

Received Dec. 7, 2017

Revised Dec. 29, 2017

Accepted Dec. 29, 2017

Corresponding author : Kyoung-Bun Lee

Department of Pathology, Seoul National University Hospital, Seoul National University College of Medicine, 101 Daehak-ro, Jongno-gu, Seoul 03080, Korea
Tel. +82-2-2072-2968 Fax. +82-2-743-5530
E-mail: kblee@snuh.org

Korean J Pancreas Biliary Tract 2018;23(1):1-6

Keywords: Gallbladder neoplasms, Adenocarcinoma, Precancerous conditions, Mutation, Carcinogenesis

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Copyright © 2018 by The Korean Journal of Pancreas and Biliary Tract

서론

2010년 World Health Organization (WHO) 종양 분류기준에 따르면, 담낭의 원발성 종양은 기원 세포에 따라 상피성 종

양과 간질성 종양으로 구분할 수 있고, 상피성 종양은 전암성 병변과 암종으로 크게 구분하여 분류하고 있다(Table 1).¹ 2010년 췌담관계 종양의 WHO 분류의 주요 변화는 간내 담관, 간외 담관, 담낭 및 췌장에서 산발적으로 정의하여 사용하던 질

Table 1. 2010 WHO classification of tumors of gallbladder and extrahepatic bile ducts

Epithelial tumor
Premalignant tumor
Adenoma
Biliary intraepithelial neoplasm, grade 3 (BilIN-3)
Intracystic (GB) or intraductal (bile ducts) papillary neoplasm (ICPN) with low- or intermediate-, high-grade intraepithelial neoplasia
MCN with low- or intermediate-, high-grade intraepithelial neoplasia
Carcinoma
Adenocarcinoma
Adenosquamous carcinoma
ICPN with an associated invasive carcinoma
MCN with an associated invasive carcinoma
Squamous cell carcinoma
Undifferentiated carcinoma
Neuroendocrine neoplasm
Mesenchymal tumor

WHO, World Health Organization; GB, gallbladder; MCN, mucinous cystic neoplasm.

환명을 형태학적 유사성과 병태생리적 특징에 따라 종양의 명칭을 통일하여 적용한 점이다. 과거 ‘이형성(dysplasia)’이라는 용어로 사용하던 전암성 병변은 담관 및 담낭의 경우는 ‘담관상피내종양(biliary intraepithelial neoplasm, BilIN)’으로 췌장에서는 ‘췌장상피내종양(pancreatic intraepithelial neoplasm, PanIN)’으로 용어를 통일하였고, 췌장에서 최초로 정의하여 사용하던 관내유두점액종양(intraductal papillary mucinous neoplasm, IPMN)은 담관 및 담낭에서도 동일한 종양이 발생하며, 과거에는 담관유두종증(biliary papillomatosis), 담관 유두점액종양(intraductal papillary mucinous neoplasm of bile duct) 등으로 불리다가, 2010년 분류에서는 관내/담낭내유두종양(intraductal or intracystic papillary neoplasm, ICPN)으로 통일하였다. 간내 담도의 대표적인 낭성 종양인 담관낭선종(biliary cystadenoma)은 난소성 간질(ovarian stroma)이 진단의 필요조건으로 포함되면서, 췌장의 점액낭종양(mucinous cystic neoplasm)과 동일한 종양으로 용어를 통일하였다. 전암성 병변의 이형성 판정 등급도 3등급으로 통일하여, 저등급(low), 중간등급(intermediate), 고등급(high)으로 분류하고, 고등급은 상피내암종과 동일한 등급으로 평가하여 병리학적 병기 평가에서 Tis로 분류하고 있다. 침윤성 암종이 상피내종

양과 같이 있을 때에는 ‘침윤암종 동반(with an associated invasive carcinoma)’을 상피내종양 진단명 뒤에 기술하도록 하여, 이형성 등급과 함께 침윤성 종양도 유사한 방식으로 통일하였다.

본 론

1. 담낭의 전암성 병변

담낭의 대표적인 전암성 병변에 BilIN과 ICPN이 있으며, 두 병변은 모두 정상 점막의 상피 세포가 비정상적인 증식성 성장을 한 경우 진단하게 되며, 비정상성의 등급은 3단계로 평가하고 있으며, 이는 핵의 이형성 정도, 핵과 세포질의 비율, 핵의 과염색성, 상피세포의 방향성 유지 여부 등을 기준으로 하고 있다. BilIN과 ICPN의 구분은 두 병변의 형태학적 특징과 병태생리적 차이에 근거한 것으로 육안 검사에서 확인할 수 있는 폴립모양의 종괴를 만들면서, 현미경적으로 혈관섬유주를 따라 종양 세포가 분포하는 유두상 증식을 하는 병변을 ICPN으로 정의하고 있다(Fig. 1A-D). 반대로 BilIN은 육안 검사에서 병변이 확인되지 않고, 현미경 검경을 통해 우연히 발견되는 점막 상피 세포의 이형성으로, 주로 침윤성 담낭암 주위의 점막에서 관찰되거나, 심한 만성 담낭염, 담석, 혹은 위축성 담낭염의 점막 상피에서 발견할 수 있다. 이 경우 종괴를 형성하는 침윤성 암을 동반하지 않더라도, 미세 암종이 주위에 동반될 수 있으므로, 담낭 전체를 대상으로 현미경적 검경을 시행하는 것을 권유한다(Fig. 1E, F). 담낭의 전암성 병변을 BilIN과 ICPN으로 구분하는 근거는 돌출성 성장을 하는 종양은 주로 종양 상피세포가 유두상(papillary) 혹은 관상 형태를 만들며, 병변의 크기가 크더라도 담낭벽을 침범하는 침습성 암종을 동반할 가능성이 적고, 동반된 침습성 암종이 발견되더라도, 병기가 낮고, 예후가 통상의 동일 장기의 암종에 비해 좋다는 췌장의 관내유두점액종양의 병태생리적 연구에 근거를 두고 있다.² 담낭에서도 과거의 진단 용어나 진단 분류에서 유사한 경향을 확인할 수 있다. 담낭 폴립이 대표적인 돌출성 종괴에 해당하며, 콜레스테롤 폴립을 제외하고, 가장 흔한 조직형은 선종(adenoma)이다. 선종은 세포 배열의 형태에 따라, 관상, 유두상, 혼합성 선종으로 구분하고, 이형성 정도에 따라 저등급, 중등급, 고등급 이형성으로 평가한다. 폴립과 함께 또 다른 내강 내로 돌출성 성장을 하는 종양으로는 유두상 종양(papillary neoplasm)이 있으며, 육안상 단일 폴립으로 보이거나, 부드러운 점막 면이 전반적으로 증식하

Fig. 1. Premalignant lesion of gallbladder. (A) Adenoma (Gross). (B) Tubular adenoma (H&E, $\times 4$). (C) Intracystic papillary neoplasm (Gross). (D) Intracystic papillary neoplasm (H&E, $\times 4$). (E) Chronic cholecystitis (Gross). (F) Biliary intraepithelial neoplasm, grade 2-3 (H&E, $\times 400$).

여 두꺼워지는 형태로 나타난다. 과거 진단분류에서는 저등급 혹은 중등급 이형성만 관찰될 경우에는 유두상 선종 (papillary adenoma)으로 진단하고, 고등급 이형성이 관찰될 경우에는 상피내암종(carcinoma in situ)에 준하여 비침습유두상암종(noninvasive papillary carcinoma)으로 진단하고, 침습성 암종을 동반할 경우에는 침습유두상선암종(invasive papillary adenocarcinoma)으로 진단하였다.³ 유두상 종양은 침습유두상선암종을 동반하더라도 일반적인 선암에 비해 예

후가 좋다고 알려져 있으며, 선종의 경우 악성으로 전환되는 비율이 0.14%로 매우 낮다고 알려져 있었다.⁴ 2010년 WHO 분류에서는 이런 돌출성 종양을 통합하여 1 cm 이상의 돌출성 성장을 하는 종양을 ICPN으로 통칭한 연구 결과를 받아들여 ICPN을 진단분류에 넣었고, 대신 비침습유두상암종과 침습유두상선암종을 진단기준에서 삭제하였다.⁵ 그러나 선종 (adenoma)은 진단분류에 남겨두었고, 유두상 선종(papillary adenoma)은 병리의사의 선호 및 기준에 따라 ICPN으로 진

단할 수 있는 여지를 남겼다.

2. 담낭의 암종

담낭 암종의 대부분은 샘의 형태나 분화가 나타나는 선암종(adenocarcinoma)에 해당하며, 종양세포의 형태에 따라, 담도성(biliary type), 위소와세포성(gastric foveolar type), 장성(intestinal type)으로 분류할 수 있고, 그 외 변형으로 투명세포암종(clear cell carcinoma), 점액선암종(mucinous adenocarcinoma), 반지세포암종(signet ring cell carcinoma)이 있다. 선암종에 비해 빈도는 매우 작으나 편평상피성 분화가 함께 관찰되며, 선-편평세포암종(adenosquamous carcinoma) 혹은 편평세포암종(squamous cell carcinoma)으로 진단하며, 어떤 세포로의 분화도 관찰되지 않을 경우 미분화성 암종(undifferentiated carcinoma)에 해당한다.

3. 담낭암의 발암 모델

상피 세포 기원의 선암을 기준으로 할 때 침윤성 암종의 80%는 암종 주위 점막 상피에 이형성을 동반하며, 이는 점막 손상을 유발하는 다양한 위험인자에 의해 정상 상피 및 주위 샘 세포에 세포 화생(metaplasia)이나 세포 증식(hyperplasia)을 유발하고, 이 과정에서 발생한 유전적 변이로 인해 이형성을 거쳐 암종으로 진행되는 단계적 발암 과정을 거칠 것으로 추정한다.⁴ 초기 담낭암의 경우 진행성 담낭암에 비해 평균 발생 연령대가 낮은 점도 이런 단계적 발암 모델의 근거가 된다. 선종-암종 변환(adenoma-carcinoma sequence)에 의한 악성 암종 발생은 전암성 병변에서 기술하였듯이, 선종에서 침습성 암종으로 발전하는 비율은 선종의 크기가 1 cm 이상일 경우 과거 연구에 비해서 높은 편이나, 1% 내외로 Billin으로 분류될 수 있는 이형성을 거친 암종 변환에 비해 소수에 해당한다고 볼 수 있다.⁵

4. 담낭암의 분자생물학적 변이

담낭암의 분자생물학적 이상에 대한 연구는 초기 단일 유전자 연구에서 최근 유전자 칩이나 차세대염기서열 분석까지 다양한 방식으로 결과들이 발표되고 있다.⁶ 대표적인 종양 유전자로는 KRAS, HER-2, epidermal growth factor receptor (EGFR), cyclin이 있으며, KRAS 변이는 10-67%로 지역별 차이가 있고, 대표적인 담관암 위험인자인 담췌관 합류 이상(anomalous union of pancreatobiliary duct, AUPBD) 환자군

에서는 비교적 초기에 생기는 유전자 이상으로 알려져 있다.⁷⁻¹¹ HER-2는 과발현으로 나타나는 경우가 33-64%로 유전자 증폭도 70%까지 보고하고 있다.¹²⁻¹⁴ EGFR은 15%에서 유전자 변이, 70%에서 과발현이 보고되고 있고, 증식에서 이형성으로 진행하면서 점차 과발현이 증가한다는 연구 결과가 있다.¹⁵ Cyclin D와 cyclin E는 과발현이 각각 41%, 45%로 알려져 있다.^{16,17} 종양억제 유전자로는 TP53, p16, p21, FHIT (Bis(5'-adenosyl)-triphosphatase or fragile histidine triad protein) 등이 있다.⁶ TP53 변이율은 31-70%로 보고되고 있고, 만성 염증에서 기원은 암종과 비슷한 경향을 보이며, 장성 선암종에서 변이율이 높다.^{11,18-23} P16은 비활성화가 41%, 이형접합성 소실(loss of heterozygosity)이 11%, 메틸화가 24%에서 보고되고 있으며, 정상에 비해 이형성과 암종으로 진행하면서 점차 염색 강도가 낮아지는 경향을 보여서 단계적 발암 모델의 증거가 된다.^{24,25} P21은 49%에서 발현이 감소한다는 보고가 있으며, FHIT는 촉진부의 메틸화, 이형접합성 소실, 틀이동변이(frameshift mutation)에 의한 비활성화가 알려져 있다.^{26,27} 염증 및 혈관생성과 관련된 유전자로는 COX-2가 알려져 있으며, 사이토카인의 생성을 유발하고, 정상에 비해 이형성 병변에서 증가하는 것으로 나타나 단계적 발암 과정의 초기에 발생하는 변이로 알려져 있다.^{28,29} 부착분자로는 claudin110, CD44, CD54가 대표적이며, beta-catenin은 좋은 예후와 관련되어 있다고 알려져 있다.³⁰⁻³⁴ 점액 관련 단백질로는 MUC1과 MUC가 있으며, 발현이 증가할수록 나쁜 예후와 관련이 있다는 보고가 있다.^{35,36} DNA 복구 관련해서는 초위성체 불안정(microsatellite instability, MSI)와 MGMT (o-6-methylguanine-DNA methyltransferase)가 알려져 있으며, MSI 보고율은 10% 정도이며, 장성 암종에서 높은 것으로 보고하고 있고, MGMT는 60%에서 이상이 있고, 나쁜 예후와 관련되어 있다는 연구보고가 있다.^{37,38} 끝분절효소(telomerase) 관련 단백질인 hTERT (human telomerase reverse transcriptase)는 정상 조직에서는 발현이 3% 정도이나, 저등급, 고등급 이형성, 암종을 거치면서 발현율이 24%, 82%, 93%로 단계적으로 증가한다는 연구 보고에 따르면, hTERT 이상은 비교적 발암 초기 단계에 발생하는 것으로 추정된다.³⁹ 최근 간내 담관암, 간외 담관암, 담낭암 총 239건을 대상으로 시행한 염기서열 분석(whole exome sequencing) 결과 기관별로 주요 변이 유전자가 다르게 나타나며, 담낭암의 경우 EGFR, ERBB3, PTEN, ARID2, MLL2, MLL3, TERT promoter 이상이 주요 변이이며, 유전자 변이를 주도하는 효소를 기준으로 분류할

때 APOBEC 관련 변이의 형태를 나타낸다고 보고하고 있고, 이 중 EGFR, ERBB3, PTEN은 표적 치료 대상 후보로 평가하고 있다.⁴⁰

결론

담낭암의 조직학적 분류는 췌담관 종양의 일반적인 기준을 따르고 있고, 이 분류법은 전암성 병변에서 암종으로 발전하는 단계적 발암 과정의 형태학적 근거에 기반을 두고 있으며, 이런 경향을 뒷받침하듯이 많은 종양 관련 유전자나 단백질의 이상이 단계적 발암 과정에 축적되어 나타나고 있다.

요약

담낭암의 대표적인 조직형은 담낭 점막의 상피세포에서 기원하는 선암(adenocarcinoma)이며, 형태적 유사성에 따라 담도성(biliary), 장관성(intestinal), 위의 소와세포성(foveolar), 혹은 편평상피성(adenosquamous) 등으로 분류할 수 있다. 선암의 전암성 병변은 3가지가 있으며 1) 선종(adenoma), 2) 담도상피내종양(BilIN), 3) 담낭내 유두상 종양(intracystic papillary neoplasm)으로 구분할 수 있다. 이런 전암성 병변은 공통적으로 세포학적 이형성을 갖는 점막 상피 세포의 증식이라는 특징을 갖고 있으나, 종양 세포가 점막 아래 간질을 침습하지 않은 상태의 병변이다. 내강 내로 돌출된 폴립 모양의 병변이나 점막이 과립상으로 비후된 경우, 선종 혹은 담낭내 유두상 종양의 경우가 많으며, 육안상 확인되지 않으나 현미경적으로 상피 세포의 이형성이 관찰될 경우 담도상피내종양에 해당한다. 이런 전암성 병변은 이형성의 정도에 따라 저등급(low), 중등급(moderate), 고등급 이형성(high grade dysplasia)의 3등급으로 평가하고 있으며, 고등급의 경우 상피내암(carcinoma in situ)과 동일한 병변으로 취급하고 있다. 선종과 담낭내 유두상 종양은 형태학적 특징이 중복되는 부분이 있어, 진단의 재현성을 높이기 위한 형태학적 기준 마련이 필요한 병변이다. 담낭 선암에서 보고된 가장 대표적인 분자유전학적 변이는 KRAS, TP53과 CDKN2A가 알려져 있고 ERBB2의 증폭도 알려져 있으나, 담도암에 특이적이면서 변이율이 높은 유전자는 많지 않다. 전암성 병변에서 선암으로 이어지는 암발생 과정에서 단계적으로 발견되는 분자유전적 변이 또한 전암성 병변의 종류나 만성 담낭염, 췌담도 기형 등의 위험인자 유무에 따라 보고율이 서로 달라, 한 가지 기전

으로 설명하기는 어렵다. 만성 담낭염을 선행인자로 갖는 경우 점막 상피의 증식 혹은 화생의 초기 단계에서 COX-2 과발현이나 TP53 변이, 미토콘드리아 DNA 손상이 발생하고, 초기 이형성 단계에서 3p, 8p 염색체의 이형접합성 소실(loss of heterozygosity, LOH) 및 HER2 증폭이 보고되고 있고, 상피내종양에서는 9p, 18q, 22q, 17p 염색체의 LOH 및 CDK2A 변이가 관찰되는 것으로 알려져 있다.

국문 색인: 담낭암, 선암, 전암성 병변, 변이, 발암과정

Conflicts of Interest

The author has no financial conflicts of interest.

REFERENCES

1. Theise ND, Park YN, Nakanuma Y. WHO classification of tumours of the digestive system. 4th ed. p205-227, Lyon, IARC Press, 2010.
2. Poultsides GA, Reddy S, Cameron JL, et al. Histopathologic basis for the favorable survival after resection of intraductal papillary mucinous neoplasm-associated invasive adenocarcinoma of the pancreas. *Ann Surg* 2010;251:470-476.
3. Albores-Saavedra J, Tuck M, McLaren BK, Carrick KS, Henson DE. Papillary carcinomas of the gallbladder: analysis of noninvasive and invasive types. *Arch Pathol Lab Med* 2005;129:905-909.
4. Trivedi V, Gumaste VV, Liu S, Baum J. Gallbladder cancer: adenoma-carcinoma or dysplasia-carcinoma sequence? *Gastroenterol Hepatol (N Y)* 2008;4:735-737.
5. 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* 2012;36:1279-1301.
6. Bal MM, Ramadwar M, Deodhar K, Shrikhande S. Pathology of gallbladder carcinoma: current understanding and new perspectives. *Pathol Oncol Res* 2015;21:509-525.
7. Saetta AA. K-ras, p53 mutations, and microsatellite instability (MSI) in gallbladder cancer. *J Surg Oncol* 2006;93:644-649.
8. Singh MK, Chetri K, Pandey UB, Kapoor VK, Mittal B, Choudhuri G. Mutational spectrum of K-ras oncogene among Indian patients with gallbladder cancer. *J Gastroenterol Hepatol* 2004;19:916-921.
9. Wistuba II, Sugio K, Hung J, et al. Allele-specific mutations involved in the pathogenesis of endemic gallbladder carcinoma in Chile. *Cancer Res* 1995;55:2511-2515.
10. Yoshida S, Todoroki T, Ichikawa Y, et al. Mutations of p16Ink4/CDKN2 and p15Ink4B/MTS2 genes in biliary tract cancers. *Cancer Res* 1995;55:2756-2760.

11. Ajiki T, Fujimori T, Onoyama H, et al. K-ras gene mutation in gall bladder carcinomas and dysplasia. *Gut* 1996;38:426-429.
12. Nakazawa K, Dobashi Y, Suzuki S, Fujii H, Takeda Y, Ooi A. Amplification and overexpression of c-erbB-2, epidermal growth factor receptor, and c-met in biliary tract cancers. *J Pathol* 2005;206:356-365.
13. Chaube A, Tewari M, Garbyal RS, Singh U, Shukla HS. Preliminary study of p53 and c-erbB-2 expression in gallbladder cancer in Indian patients manuscript id: 8962091628764582. *BMC Cancer* 2006;6:126.
14. Suzuki T, Takano Y, Kakita A, Okudaira M. An immunohistochemical and molecular biological study of c-erbB-2 amplification and prognostic relevance in gallbladder cancer. *Pathol Res Pract* 1993;189:283-292.
15. Leone F, Cavalloni G, Pignochino Y, et al. Somatic mutations of epidermal growth factor receptor in bile duct and gallbladder carcinoma. *Clin Cancer Res* 2006;12:1680-1685.
16. Hui AM, Li X, Shi YZ, Takayama T, Torzilli G, Makuuchi M. Cyclin D1 overexpression is a critical event in gallbladder carcinogenesis and independently predicts decreased survival for patients with gallbladder carcinoma. *Clin Cancer Res* 2000;6:4272-4277.
17. Eguchi N, Fujii K, Tsuchida A, Yamamoto S, Sasaki T, Kajiyama G. Cyclin E overexpression in human gallbladder carcinomas. *Oncol Rep* 1999;6:93-96.
18. Wistuba II, Gazdar AF, Roa I, Albores-Saavedra J. p53 protein overexpression in gallbladder carcinoma and its precursor lesions: an immunohistochemical study. *Hum Pathol* 1996;27:360-365.
19. Hanada K, Itoh M, Fujii K, Tsuchida A, Oishi H, Kajiyama G. K-ras and p53 mutations in stage I gallbladder carcinoma with an anomalous junction of the pancreaticobiliary duct. *Cancer* 1996;77:452-458.
20. Fujii K, Yokozaki H, Yasui W, et al. High frequency of p53 gene mutation in adenocarcinomas of the gallbladder. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1996;5:461-466.
21. Itoi T, Watanabe H, Yoshida M, Ajioka Y, Nishikura K, Saito T. Correlation of p53 protein expression with gene mutation in gall-bladder carcinomas. *Pathol Int* 1997;47:525-530.
22. Yokoyama N, Hitomi J, Watanabe H, et al. Mutations of p53 in gallbladder carcinomas in high-incidence areas of Japan and Chile. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1998;7:297-301.
23. Xuan YH, Choi YL, Shin YK, et al. An immunohistochemical study of the expression of cell-cycle-regulated proteins p53, cyclin D1, RB, p27, Ki67 and MSH2 in gallbladder carcinoma and its precursor lesions. *Histol Histopathol* 2005;20:59-66.
24. Quan ZW, Wu K, Wang J, Shi W, Zhang Z, Merrell RC. Association of p53, p16, and vascular endothelial growth factor protein expressions with the prognosis and metastasis of gallbladder cancer. *J Am Coll Surg* 2001;193:380-383.
25. Shi YZ, Hui AM, Li X, Takayama T, Makuuchi M. Overexpression of retinoblastoma protein predicts decreased survival and correlates with loss of p16INK4 protein in gallbladder carcinomas. *Clin Cancer Res* 2000;6:4096-4100.
26. Li X, Hui AM, Shi YZ, Takayama T, Makuuchi M. Reduced p21(WAF1/CIP1) expression is an early event in gallbladder carcinogenesis and is of prognostic significance for patients with carcinomas of the gallbladder. *Hum Pathol* 2001;32:771-777.
27. Wistuba II, Ashfaq R, Maitra A, Alvarez H, Riquelme E, Gazdar AF. Fragile histidine triad gene abnormalities in the pathogenesis of gallbladder carcinoma. *Am J Pathol* 2002;160:2073-2079.
28. Asano T, Shoda J, Ueda T, et al. Expressions of cyclooxygenase-2 and prostaglandin E-receptors in carcinoma of the gallbladder: crucial role of arachidonate metabolism in tumor growth and progression. *Clin Cancer Res* 2002;8:1157-1167.
29. Zhi YH, Liu RS, Song MM, et al. Cyclooxygenase-2 promotes angiogenesis by increasing vascular endothelial growth factor and predicts prognosis in gallbladder carcinoma. *World J Gastroenterol* 2005;11:3724-3728.
30. Németh Z, Szász AM, Tátrai P, et al. Claudin-1, -2, -3, -4, -7, -8, and -10 protein expression in biliary tract cancers. *J Histochem Cytochem* 2009;57:113-121.
31. Roa I, Villaseca M, Araya J, et al. CD44 (HCAM) expression in subserous gallbladder carcinoma. *Rev Med Chil* 2001;129:727-734.
32. Chang HJ, Jee CD, Kim WH. Mutation and altered expression of beta-catenin during gallbladder carcinogenesis. *Am J Surg Pathol* 2002;26:758-766.
33. Yanagisawa N, Mikami T, Saegusa M, Okayasu I. More frequent beta-catenin exon 3 mutations in gallbladder adenomas than in carcinomas indicate different lineages. *Cancer Res* 2001;61:19-22.
34. Choi YL, Xuan YH, Shin YK, et al. An immunohistochemical study of the expression of adhesion molecules in gallbladder lesions. *J Histochem Cytochem* 2004;52:591-601.
35. Sasaki M, Yamato T, Nakanuma Y, Ho SB, Kim YS. Expression of MUC2, MUC5AC and MUC6 apomucins in carcinoma, dysplasia and non-dysplastic epithelia of the gallbladder. *Pathol Int* 1999;49:38-44.
36. Lee HK, Cho MS, Kim TH. Prognostic significance of muc4 expression in gallbladder carcinoma. *World J Surg Oncol* 2012;10:224.
37. Garcia P, Manterola C, Araya JC, et al. Promoter methylation profile in preneoplastic and neoplastic gallbladder lesions. *Mol Carcinog* 2009;48:79-89.
38. Roa I, de Aretxabala X, Araya JC, Roa J. Preneoplastic lesions in gallbladder cancer. *J Surg Oncol* 2006;93:615-623.
39. Luzar B, Poljak M, Cör A, Klopčič U, Ferlan-Marolt V. Expression of human telomerase catalytic protein in gallbladder carcinogenesis. *J Clin Pathol* 2005;58:820-825.
40. Nakamura H, Arai Y, Totoki Y, et al. Genomic spectra of biliary tract cancer. *Nat Genet* 2015;47:1003-1010.