

療後の二次がんの発症率の高さを示唆しているものと思われる。また2症例ともHLの治療終了後10年以上経過してからの発症であり、長期にわたる経過観察の必要性がうかがえる。さらに欧米からの報告では、HL治療後の二次がんはHLの死亡原因の20%を占めており、その予後は不良である。二次性NHLの発症率は0.4~3%で^{4,5)}、化学療法単独、放射線療法単独、両者の併用および造血幹細胞移植のいずれにも反応性が乏しく、Ruefferらによれば2年生存率は30%と報告されており⁶⁾、Ngらの報告でも5年生存率は50%程度に過ぎない⁹⁾。自験例の2症例は現在のところ、それぞれ52カ月間と13カ月間寛解を維持しているが、今後も注意深い経過観察が必要である。

HLに対する治療の今後の課題は、現在の高い生存率を維持しつつ、いかに晩期障害のリスクを減らせるかであり、放射線照射量とアルキル化剤をどこまで減量、あるいは省略できるかという点においての検討が必要である。そのためには、過去に報告されている症例の追跡調査体制を確立すると同時に、統一された治療プロトコルによる多施設共同研究が組織されることが必要と思われる。

引用文献

- 1) 熊谷昌明: ホジキンリンパ腫. 小児科診療 68: 1309-1317, 2005
- 2) 瀧本哲也, 赤在あゆみ, 井上雅美, 他: *JACLS・KYCCSG 参加施設における小児 Hodgkin リンパ腫症例の後方視的検討. 日小血会誌 16: 274, 2002
- 3) 三間屋純一, 畑江芳郎, 中村昌徳, 他: *過去15年間に CCLSG 所属施設にて治療されたホジキン病のアンケート調査報告. 日小血会誌 16: 275, 2002
- 4) Bhatia S, Robison LL, Oberlin O, et al: Breast cancer and other second neoplasms after childhood Hodgkin's disease. *N Engl J Med* 12: 745-751, 1996
- 5) Foss Abrahamsen A, Andersen A, Nome O, et al: Long-term risk of second malignancy after treatment of Hodgkin's disease: The influence of treatment, age and follow-up time. *Ann Oncol* 13: 1786-1791, 2002
- 6) Rueffer U, Josting A, Franklin J, et al: Non-Hodgkin's lymphoma after primary Hodgkin's disease in German Hodgkin's Lymphoma Study Group: Incidence, treatment, and prognosis. *J Clin Oncol* 19: 2026-2032, 2001
- 7) Green DM, Hyland A, Barcos MP, et al: Second malignant neoplasms after treatment for Hodgkin's disease in childhood or adolescence. *J Clin Oncol* 18: 1492-1499, 2000
- 8) Ng AK, Bernardo MV, Weller E, et al: Second malignancy after Hodgkin's disease treated with radiation therapy with or without chemotherapy: Long-term risks and risk factors. *Blood* 100: 1989-1996, 2002
- 9) Metayer C, Lynch CF, Clarke EA, et al: Second cancers among long-term survivors of Hodgkin's disease diagnosed in childhood and adolescence. *J Clin Oncol* 18: 2435-2443, 2000
- 10) 熊谷昌明, 瀧本哲也, 三間屋純一, 他: *小児ホジキンリンパ腫 157 例の後方視的検討. 第 65 回日本血液学会総会抄録: 146, 2003
- 11) Bramswig JH, Heimes U, Heiermann E, et al: The effects of different cumulative dose of chemotherapy on testicular function. Results in 75 patients treated for Hodgkin's disease during childhood or adolescence. *Cancer* 65: 1298-1302, 1990
- 12) Hudson MM, Donaldson SS: Treatment of pediatric Hodgkin's lymphoma. *Semin Hematol* 36: 313-323, 1999
- 13) Lin HM, Teitell MA: Second malignancy after treatment of pediatric Hodgkin disease. *J Pediatr Hematol Oncol* 27: 28-36, 2005
- 14) Landman-Parker J, Pacquement H, Leblanc T, et al: Localized childhood Hodgkin's disease: Response-adapted chemotherapy with etoposide, bleomycin, vinblastine, and prednisone before low-dose radiation therapy-results of French Society of Pediatric Oncology study MDH90. *J Clin Oncol* 18: 1500-1507, 2000
- 15) Schellong G, Potter R, Bramswig J, et al: High cure rates and reduced long-term toxicity in pediatric Hodgkin's disease: The German-Austrian Multicenter Trial DAL-HD-90. *J Clin Oncol* 17: 3736-3744, 1999
- 16) Hutchinson RJ, Fryer CJ, Davis PC, et al: MOPP or radiation in addition to ABVD in the treatment of pathologically staged advanced Hodgkin's disease in children: Results of the Children's Cancer Group phase III trial. *J Clin Oncol* 16: 897-906, 1998
- 17) Nachman JB, Sposto R, Herzog P, et al: Randomized comparison of low-dose involved-field radiotherapy and no radiotherapy for children with Hodgkin's disease who achieve a complete response to chemotherapy. *J Clin Oncol* 20: 3765-3771, 2002
- 18) Weiner MA, Leventhal B, Brecher ML, et al: Randomized study of intensive MOPP-ABVD with or without low-dose total-nodal radiation therapy in the treatment of stages IIB, IIIA2, IIIB, and IV Hodgkin's disease in pediatric patients: A Pediatric Oncology Group study. *J Clin Oncol* 15: 2769-2779, 1997

Case Report

Primary Ewing's Sarcoma Family Tumors of the Lung – a Case Report and Review of the Literature

Daijiro Takahashi¹, Jun Nagayama¹, Yoshihisa Nagatoshi¹, Jiro Inagaki¹, Kenichi Nishiyama², Ryohei Yokoyama³, Yosio Moriyasu⁴, Kenji Okada⁴ and Jun Okamura⁵

¹Section of Pediatrics, National Kyushu Cancer Center, ²Department of Pathology, ³Department of Orthopaedics, National Kyushu Cancer Center, ⁴Department of Pediatrics, Fukuoka National Hospital and ⁵Institute for Clinical Research, National Kyushu Cancer Center, Minami-ku, Fukuoka, Japan

Received March 25, 2007; accepted July 8, 2007

Ewing's sarcoma family tumors (ESFT) have been reported to originate in a variety of sites, most commonly in the extremities. We herein report a case of a primary ESFT of the lung presenting in an 8-year-old boy. A histological examination of hematoxylin–eosin stained sections showed a homogeneous population of closely packed small neoplastic cells. The tumor cells were strongly positive for CD99/MIC2 and negative for the leukocyte common antigen, myoglobin, desmin, epithelial membrane antigen, AE1/AE3 and synaptophysin. The patient was treated with neoadjuvant chemotherapy and surgery. Nine months later, he is in good condition and chest CT scans have revealed no evidence of either local recurrence or distant metastasis. Cases of ESFT of the lung have been reported in recent years but there are still few reports of primary ESFT of the lung. To date, only eight cases of ESFT of the lung have been reported in the literature. This is the first report of an ESFT of the lung occurring in a patient under 10 years of age. The clinical course and therapeutic management of ESFT are also discussed.

Key words: Ewing's sarcoma – lung – MIC2

INTRODUCTION

Ewing's sarcoma family tumors (ESFT), which comprises Ewing sarcoma of the bone and primitive neuroectodermal tumors, is the second most common type of malignant bone tumor occurring in children and young adults, and it accounts for 10–15% of all primary bone tumors, following osteosarcoma (1). The annual incidence is estimated to be 0.6 per million population (2).

Most ESFT occur in the bone. As opposed to osteosarcoma, flat bones of the axial skeleton are more commonly affected, while in long bones, ESFT tend to arise from the diaphysis rather than the metaphysis. ESFT can affect any bone but the most common sites are the lower extremities (3).

Histologically, ESFT is a malignant, small, round-cell tumor. A classification scheme has been proposed for the

differential diagnosis of ESFT based on the recognition of neural differentiation and characterized by the presence of Homer wright rosettes and/or immunohistochemically by the expression of at least two different neural markers (4). In addition, the glycoprotein p30/32 (CD99), which is encoded by the MIC2 gene, is strongly expressed on the surface of the tumor cells (5,6).

The identification of a non-random t(11;22)(q24;q12) chromosome rearrangement has been recently reported (7,8) in these aggressive malignant tumors, and this is considered to be strong evidence for their common histogenesis, while it is also a valuable characteristic that is useful in making a differential diagnosis from other small round cell tumors occurring in childhood and adolescence.

Cases of ESFT of the lung have been reported in recent years but there are very still few reports of primary pulmonary ESFT. To date, only eight cases of ESFT of the lung have been reported in the literature. Both the clinical course and the therapeutic management of this disease are discussed.

For reprints and all correspondence: Yoshihisa Nagatoshi, Section of Pediatrics, National Kyushu Cancer Center, 3-1-1 Notame, Minami-ku, Fukuoka, 811-1395, Japan, E-mail: ynagatos@nk-cc.go.jp

CASE REPORT

An 8-year-old boy was admitted to a regional hospital because of a low-grade fever and non-productive cough. His past and family history were noncontributory. The findings of physical and laboratory examinations on admission were normal with no evidence of lymphadenopathy, but a chest X-ray demonstrated a large consolidation in the right lung



Figure 1. Chest X-ray film showing a relatively circumscribed mass in the right lung.

(Fig. 1). A computed tomography (CT) scan and magnetic resonance imaging (MRI) revealed a contrast-enhancing mass lesion in his right upper lobe of the lung (Fig. 2). The patient underwent a needle biopsy which revealed a proliferation of malignant small, round cells. As a result, he was transferred to our hospital to receive further treatment. A histological examination of hematoxylin–eosin stained sections showed a homogeneous population of closely packed small neoplastic cells with fibrovascular stroma. Most of the individual cells had scanty cytoplasm and round or oval nuclei with fine powdery chromatin (Fig. 3). A panel of immunohistochemical staining was performed. The tumor cells were strongly positive for CD99/MIC2 (Fig. 3) and negative for leukocyte common antigen, myoglobin, desmin, epithelial membrane antigen, AE1/AE3 and synaptophysin. CD99/MIC2 stain exhibited strong membranous staining. The histological and immunohistochemical findings were compatible with ESFT. We could not perform reverse transcriptase-polymerase chain reaction to detect EWS associated chimeric mRNA, such as EWS-FLI1, because the biopsied specimen was too small to do so. The patient thereafter underwent abdominal, pelvic and cervical CT, a whole body technetium bone scan, a gallium scan and a bone marrow biopsy, in addition to chest CT. As a result, neither any evidence of another tumor that could be associated with the primary site nor distant metastasis was observed.

After making the diagnosis, the patient was treated with neoadjuvant and adjuvant chemotherapy, including ifosfamide, etoposide, vincristine, doxorubicin and cyclophosphamide, and surgery. The histological examination of the resected specimen after chemotherapy revealed an

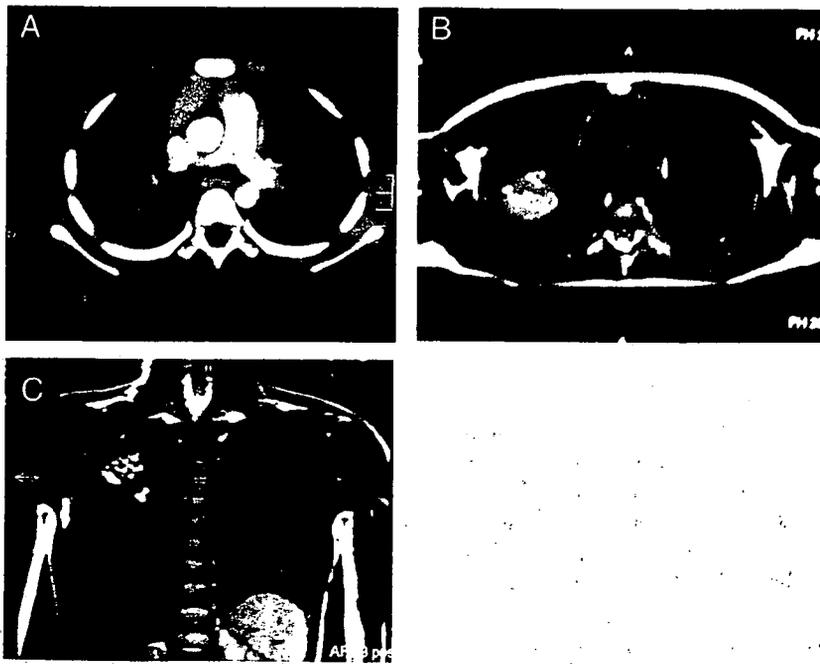


Figure 2. Computed tomography (A) and magnetic resonance imaging (B, C) demonstrate a lobulated mass confined to the lung parenchyma.

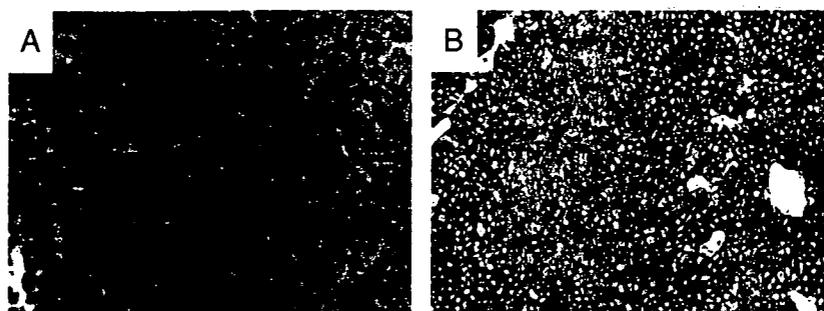


Figure 3. Primary Ewing's sarcoma family tumor (ESFT) of the lung. Microscopic features characterized by diffuse sheets of small round cells (A). Neoplastic cells showing distinct membranous reactivity for MIC2 (B).

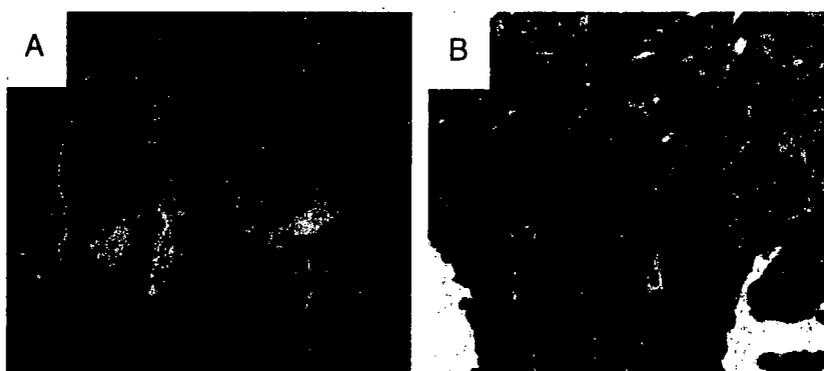


Figure 4. The cut surface of the lobectomy specimen showing a medullary tumor confined to the pulmonary parenchyma (A). A histological examination of hematoxylin-eosin stained sections showed small round neoplastic cells (B). The residual tumor was positive for MIC2 (not shown).

incomplete disappearance of the tumor cells (Fig. 4). Nine months later, after surgery, he is in good condition and chest CT scans reveal no evidence of recurrence.

DISCUSSION

The ESFT is an uncommon malignant neoplasm. The family shares a common histological feature of closely packed small primitive round cells. ESFT most frequently arise in the bones followed by the soft tissue, but they have also rarely been reported at other sites, such as the ovaries, uterus, kidney, pancreas, colon, hard palate and lung (9–20). The morphological features of the present intrapulmonary tumors were closely similar to those of ESFT observed at a variety of other locations.

The histologic differential diagnoses comprised other small, round cell malignancies, including malignant lymphoma, embryonal rhabdomyosarcoma and neuroblastoma. Immunohistochemical and histochemical staining positive for glycogen (PAS, 80%), neuron-specific enolase (60%), S-100 protein (50%) and MIC-2 marker (90%) as well as negative findings for leukocyte common antigen, epithelial membrane antigen, cytokeratin, desmin, vimentin, myoglobin and glial fibrillary acidic protein all indicate a diagnosis of Ewing sarcoma (21). In our case, both the histological and

immunohistochemical findings were compatible with ESFT, whereas a genetic analysis could not be performed due to the insufficient amount of the biopsy specimen.

In this report, we describe a primary ESFT of the lung, bringing the total number of reported ESFT described at this site to nine cases, including the present one. The clinical features of these cases are summarized in Table 1. The median age was 27.6 (8–64) years, including six males. Four out of nine cases occurred in adolescents.

They were treated with various combinations of surgery, chemotherapy and radiation therapy. Of the seven patients with a follow-up, three were treated with surgery and chemotherapy and are still alive without disease at 16 months, 22 months and 2 years, respectively, after surgery. On the other hand, two patients treated by surgery died due to widespread metastatic disease 2 years after the operation. Based on this small number of cases, ESFT of the lung is thus considered to be an aggressive neoplasm that has a clinical course similar to ESFT occurring in other organs. In general, patients who present with metastases at diagnosis have a 5-year survival rate of 20–30%. The treatment of choice is an early surgical removal with intensive chemotherapy and radiation therapy to ablate any residual microscopic disease.

In summary, we herein described an extremely rare case of ESFT of the lung which demonstrated immunoreactivity to the MIC2 gene product. This is the first report of an ESFT

Table 1. Previous reports of primary Ewing sarcoma family of tumors of the lung

Reference	Year	Age	Gender	Metastasis at diagnosis	Treatment	Follow-up
Hammer et al.	1989	64	M	?	Ope/Chemo/RT	NE
Catalan et al.	1997	29	M	Multiple pulmonary nodules	Ope/Chemo	NE
Tsuji et al.	1998	25	F	None	Ope	DOD, 2 years
		15	M	None	Ope/Chemo	NED, 2 years
Imamura et al.	2000	41	M	None	Ope/Chemo	NED, 22 months
		30	F	None	Ope/Chemo	NED, 16 months
Kahn et al.	2001	18	M	None	Ope	DOD, 2 years
Mikami et al.	2001	18	F	?	Ope/Chemo/RT	DOD, 3 months
Present case	2006	8	M	None	Ope/Chemo	NED, 8 months

Ope, operation; chemo, chemotherapy; RT, radiotherapy; NE, not evaluable; DOD, dead of diseases; NED, no evidence of disease.

of the lung occurring in a patient under 10 years of age. In addition, we also reviewed the eight cases of primary ESFT of the lung previously reported in the literature along with the present case. The optimal treatment of primary ESFT of the lung has not yet been clearly established. Adjuvant and/or neoadjuvant chemotherapy may thus be able to improve the treatment results in the future.

Conflict of interest

None declared.

References

- Gurney JG, Severson RK, Davis S, Robison LL. Incidence of cancer in children in the United States. Sex-, race-, and 1-year age-specific rates by histologic type. *Cancer* 1995;75:2186–95.
- Price CH, Jeffree GM. Incidence of bone sarcoma in SW England, 1946–74, in relation to age, sex, tumour site and histology. *Br J Cancer* 1977;36:511–22.
- Grier HE. The Ewing family of tumors. Ewing's sarcoma and primitive neuroectodermal tumors. *Pediatr Clin N Am* 1997;44:991–1004.
- Schmidt D, Herrmann C, Jurgens H, Harms D. Malignant peripheral neuroectodermal tumor and its necessary distinction from Ewing's sarcoma. A report from the Kiel Pediatric Tumor Registry. *Cancer* 1991;68:2251–9.
- Ambros IM, Ambros PF, Strehl S, Kovar H, Gadner H, Salzer-Kuntschik M. MIC2 is a specific marker for Ewing's sarcoma and peripheral primitive neuroectodermal tumors. Evidence for a common histogenesis of Ewing's sarcoma and peripheral primitive neuroectodermal tumors from MIC2 expression and specific chromosome aberration. *Cancer* 1991;67:1886–93.
- d'Amore ES, Ninfo V. Soft tissue small round cell tumors: morphological parameters. *Semin Diagn Pathol* 1996;13:184–203.
- Aurias A, Rimbaut C, Buffe D, Zucker JM, Mazabraud A. Translocation involving chromosome 22 in Ewing's sarcoma. A cytogenetic study of four fresh tumors. *Cancer Genet Cytogenet* 1984;12:21–5.
- Turc-Carel C, Philip I, Berger MP, Philip T, Lenoir GM. Chromosome study of Ewing's sarcoma (ES) cell lines. Consistency of a reciprocal translocation t(11;22)(q24;q12). *Cancer Genet Cytogenet* 1984;12:1–19.
- Kawauchi S, Fukuda T, Miyamoto S, Yoshioka J, Shirahama S, Saito T, et al. Peripheral primitive neuroectodermal tumor of the ovary confirmed by CD99 immunostaining, karyotypic analysis, and RT-PCR for EWS/FLI-1 chimeric mRNA. *Am J Surg Pathol* 1998;22:1417–22.
- Ng SB, Sirmampalam K, Chuah KL. Primitive neuroectodermal tumours of the uterus: a case report with cytological correlation and review of the literature. *Pathology* 2002;34:455–61.
- Kuroda M, Urano M, Abe M, Mizoguchi Y, Horibe Y, Murakami M, et al. Primary primitive neuroectodermal tumor of the kidney. *Pathol Int* 2000;50:967–72.
- Danner DB, Hruban RH, Pitt HA, Hayashi R, Griffin CA, Perlman EJ. Primitive neuroectodermal tumor arising in the pancreas. *Mod Pathol* 1994;7:200–4.
- Kuwabara K, Ishida H, Shirakawa K, Yokoyama M, Nakada H, Hayashi Y, et al. Primitive neuroectodermal tumor arising in the colon: report of a case. *Surg Today* 2006;36:193–7.
- Kang MS, Yoon HK, Choi JB, Eum JW. Extraskelletal Ewing's sarcoma of the hard palate. *J Korean Med Sci* 2005;20:687–90.
- Hammar S, Bockus D, Remington F, Cooper L. The unusual spectrum of neuroendocrine lung neoplasms. *Ultrastruct Pathol* 1989;13:515–60.
- Catalan RL, Murphy T. Primary primitive neuroectodermal tumor of the lung. *AJR Am J Roentgenol* 1997;169:1201–2.
- Tsuji S, Hisaoka M, Morimitsu Y, Hashimoto H, Jimi A, Watanabe J, et al. Peripheral primitive neuroectodermal tumour of the lung: report of two cases. *Histopathology* 1998;33:369–74.
- Imamura F, Funakoshi T, Nakamura S, Mano M, Kodama K, Horai T. Primary primitive neuroectodermal tumor of the lung: report of two cases. *Lung Cancer* 2000;27:55–60.
- Kahn AG, Avagnina A, Nazar J, Elsner B. Primitive neuroectodermal tumor of the lung. *Arch Pathol Lab Med* 2001;125:397–9.
- Mikami Y, Nakajima M, Hashimoto H, Irei I, Matsushima T, Kawabata S, et al. Primary pulmonary primitive neuroectodermal tumor (PNET). A case report. *Pathol Res Pract* 2001;197:113–9; discussion 121–2.
- Christie DR, Bilous AM, Carr PJ. Diagnostic difficulties in extrasosseous Ewing's sarcoma: a proposal for diagnostic criteria. *Australas Radiol* 1997;41:22–8.

■ 特集 小児固形腫瘍の分子生物学 (その3) : 最新の知見

Ewing 肉腫ファミリー腫瘍の分子生物学

大喜多 肇*

はじめに

Ewing 肉腫ファミリー腫瘍 (Ewing's sarcoma family tumor : ESFT) は, 小児や若年成人の骨軟部に好発する腫瘍であり, 原発性悪性骨腫瘍のなかでは骨肉腫に次ぐ頻度とされている。本腫瘍群には Ewing 肉腫, peripheral primitive neuroectodermal tumor (PNET) が含まれる。両腫瘍は, 元来, 異なる腫瘍として報告されてきたが, 共通する染色体転座と病理組織学的特徴により, 現在では, 同一の範疇に入る腫瘍と考えられている。本稿では, ESFT における融合遺伝子の病理学的あるいは臨床的な意義と腫瘍発生における生物学的な意義について概説したい。

I. 病理組織学的特徴

Ewing 肉腫と PNET では, 小型類円形でクロマチンの増量した核と明るい細胞質を有する腫瘍細胞が, 繊細な血管性間質を伴ってびまん性に増殖する。Ewing 肉腫はほとんど分化形質を示さない。一方, PNET では Homer-Wright 型の偽ロゼットがしばしば認められ, 免疫組織化学的に neuron specific enolase や neurofilament などの神経系のマーカーの発現が認められる。しかしながら, 同一の腫瘍内にほとんど分化形質を示さない Ewing 肉腫の組織像を示す部と, 神経系の形質を示す PNET の組織像を示す部が混在することもあり, Ewing 肉腫, PNET を明確に区別することは困難なこともある。これらの腫瘍は, 免疫組織学的には CD99 (MIC2) が, びまん性に膜上に陽性となるのが特徴的である。CD99 は ESFT

表 ESFT に認められる染色体転座と融合遺伝子

転座の核型	融合遺伝子	頻度
t(11;22)	<i>EWS-FLI1</i>	80%
t(21;22)	<i>EWS-ERG</i>	15%
t(7;22)	<i>EWS-ETV1</i>	まれ
t(17;22)	<i>EWS-E1AF</i>	まれ
t(2;22)	<i>EWS-FEV</i>	まれ
t(16;21)	<i>FUS-ERG</i>	まれ
t(2;16)	<i>FUS-FEV</i>	まれ

の感度の高いマーカーであるが, リンパ芽球性リンパ腫をはじめとする他の小円形細胞腫瘍においても陽性となることがあり, 鑑別診断上, 留意する必要がある。

II. 分子遺伝学的特徴

ESFT の約 80% に特徴的な染色体転座 t(11;22) が存在し, 転座による融合遺伝子 *EWS/FLI1* が単離された (表)^{1,2)}。さらに約 15% には t(21;22) に由来する *EWS/ERG* 遺伝子が存在する。この 2 つの融合遺伝子に加え, 頻度は非常に低いが, *EWS/ETV1*, *EWS/E1AF*, *EWS/FEV* といった融合遺伝子が報告されている³⁾。これらの融合遺伝子はいずれも 5' 側が *EWS* 遺伝子 (EWSR1, Ewing sarcoma breakpoint region 1) で, 3' 側が ETS family に属する転写因子であり, *EWS/ETS* 融合遺伝子とも呼ばれている。*EWS* 遺伝子の産物は, RNA 結合蛋白質と考えられ, 類似した構造を有する *FUS* (fusion in malignant liposarcoma), *TAF II 68* (*TAF15*, *TAF15* RNA polymerase II, *TATA* box binding protein (TBP)-associated factor; 68kDa) とともに TET family と呼ばれている。それぞれの融合遺伝子の産物には N 末端側

* 国立成育医療センター研究所発生・分化研究部
〔〒157-8535 東京都世田谷区大蔵 2-10-1〕

の transactivation domain が含まれている。一方、3'側の転写因子には ETS DNA binding domain が in frame で含まれるというのが共通した特徴であり、融合遺伝子は異常な転写因子として作用すると考えられている。さらに、近年、*EWS/ETS* 融合遺伝子に加え、TET ファミリーのメンバーである *FUS* 遺伝子と ETS ファミリーの転写因子による融合遺伝子 (*FUS/ERG*, *FUS/FEV*) が報告されている。

III. 遺伝子診断

ESFT の病理学的診断は、特徴的な病理組織学的形態と免疫染色 (CD99 陽性、他の分化マーカー desmin, TdT などが陰性) によってなされるのが一般的であろう。しかしながら、ごく少量しか腫瘍成分が得られない場合や、免疫染色の染色性が不良の場合など診断に苦慮することが少なくない。このような場合、融合遺伝子の同定が確定診断を下すために重要となる。筋と神経への分化を示す biphenotypic sarcoma で *EWS/FLI1* が、desmoplastic round cell tumor で *EWS/ERG* が検出されたとの報告があること、*FUS/ERG* が急性骨髄性白血病の一部で同定されるなど、*EWS* (あるいは *FUS*) /*ETS* 融合遺伝子は、ESFT に 100% 特異的とはいえないものの、非常に特異性が高いと考えられており、病理組織学的な形態所見と組み合わせて診断を行うことにより、より正確な診断が可能と思われる。一方、頻度は低いものの、融合遺伝子が検出されないが病理学的には ESFT と考えざるを得ない症例も存在する。このような場合は、病理組織学的鑑別診断 (リンパ芽球性リンパ腫や低分化型の滑膜肉腫など) を十分考慮したうえで、ESFT の診断を下すべきであろう。

ESFT の場合、*EWS* と ETS family の転写因子が、さまざまな exon の組み合わせで融合するサブタイプが存在する。このことから、RT-PCR 法で遺伝子診断する場合、融合遺伝子に由来する PCR 産物の長さが症例により一定ではなく、シーケンスによる塩基配列の確認が必要な場合もある。さらに、パラフィン包埋ブロックを用いた RT-PCR の場合、標的とする配列を 100 塩基程度

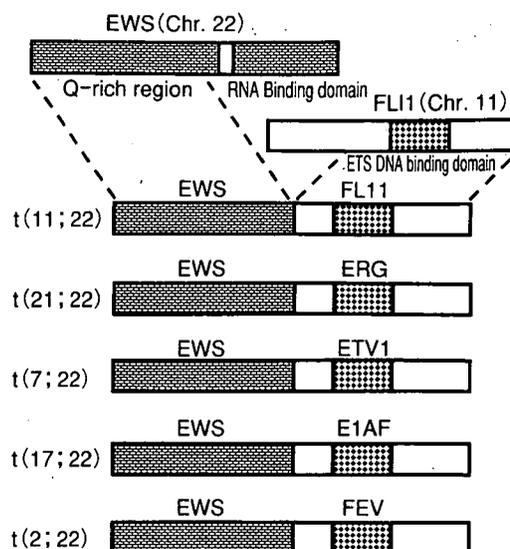


図 ESFT にみられる *EWS* 関連融合遺伝子の模式図

EWS の N 末端側には Q (glutamine)-rich region があり、*FLI1* の C 末端側には ETS DNA binding domain がある。

に短くする必要があるので、それぞれのサブタイプに応じた PCR プライマーの設計が必要であり、まれなサブタイプの検出は現実的には困難である。

各融合遺伝子のサブタイプと予後との関連については、差がないという報告もあるが、*EWS/FLI1* の type 1 とそれ以外の融合遺伝子を有する腫瘍では、前者のほうが予後が良いという報告もなされており、今後、さらに検討されるべき課題である⁴⁾。また、骨髄や末梢血における融合遺伝子の検索によって微小残存病変を感度良く検出できると報告されているが、これらの臨床的意義の評価は現時点では定まっていない。

IV. 融合遺伝子による腫瘍発生機序

EWS/ETS 融合遺伝子は ESFT のほぼすべてに存在すること、*EWS/FLI1* は NIH3T3 をトランスフォームする能力を有することから、*EWS/ETS* は ESFT の腫瘍発生に非常に重要な役割を演じていると考えられている。*EWS/ETS* は、ETS DNA binding domain を有することから異常な転写因子として機能すると考えられており、その標的遺伝子が探索されてきた。これまで同定

された遺伝子のなかには、*c-Myc* (細胞周期やアポトーシスに関与するがん遺伝子) や *CCND1* (cyclin D1, 細胞周期関連分子), *PDGFC* (platelet derived growth factor C, 間葉系細胞に作用する増殖因子), *Nkx2.2* (NK2 homeobox 2, 神経細胞の分化にかかわるホメオボックスを有する分子), *NR0B1* (オーファン核内受容体), *Id2* (inhibitor of DNA binding 2, bHLH 転写因子に対して抑制的に作用する分子) などが報告されている^{5,6)}。

また、融合遺伝子は転写を上昇させるばかりでなく、*TGFBR2* (TGF- β type 2 receptor) や *IGFBP-3* (insulin-like growth factor-binding protein 3) のように融合遺伝子によって発現が抑制される分子も報告されている⁷⁾。前述した分子に加えて、さまざまな培養細胞への融合遺伝子導入実験により、*EWS/ETS* 融合遺伝子の産物はかなり多数の遺伝子の転写を直接的あるいは間接的に制御していると考えられつつあり、ひとつの遺伝子の制御のみで腫瘍発生を説明することはできないようである。今後は、各標的分子が腫瘍発生に果たす役割を明確にするとともに、どの分子が腫瘍の発症、維持に重要であるか解明する必要があるであろう。

さまざまな培養細胞に融合遺伝子を発現させることによって、その腫瘍発生における役割が解析されてきた。マウスの線維芽細胞である NIH3T3 細胞が、*EWS/FLI1* の強制発現によりトランスフォームされ、ESFT の形質の一部が出現することが報告されている。また、*EWS/FLI1* の強制発現により神経芽腫や横紋筋肉腫に ESFT のマーカーが発現するなど、融合遺伝子はトランスフォーム能があるのみならず、細胞の分化形質も制御するものと考えられる。一方、ヒトの線維芽細胞に融合遺伝子を強制発現させてもトランスフォームされず、ESFT 様の形態変化も生じないようである。これらのことからヒトの細胞では融合遺伝子のみではトランスフォームに不十分で他の遺伝子異常なども必要と推測されるとともに、細胞の環境により融合遺伝子が発揮する効果が異なる可能性も考えられる。

一方、RNAi を用いて ESFT 細胞において

EWS/FLI1 をノックダウンすると、ソフトアゲア上でのコロニー形成能が失われること、ヌードマウスでの腫瘍形成能が抑制されることが示された⁵⁾。このことは、前述した強制発現の結果とあわせ、*EWS/FLI1* が ESFT にとって必須であることを示している。さらに、*EWS/FLI1* をノックダウンした ESFT 細胞の遺伝子発現プロファイルは、間葉系幹細胞に近づくこと、*EWS/FLI1* をノックダウンした ESFT 細胞は、脂肪や骨への分化能を示し、間葉系幹細胞様の性質が出現することが示された⁸⁾。さらに、マウスの骨髄由来間葉系前駆細胞に *EWS/FLI1* を強制発現させると、ESFT 類似の腫瘍を形成しうることも報告された⁹⁾。ESFT の発生母地は、未熟な間葉系細胞、神経堤細胞などの説が唱えられているが、これらの結果からは、間葉系幹細胞あるいはそれに近い細胞が ESFT の起始細胞であることが示唆される。今後、ヒト間葉系幹細胞/前駆細胞における *EWS/ETS* の機能が解明されることが期待される。

おわりに

融合遺伝子の発見以来、ESFT の疾患概念が整理されるとともに、その腫瘍発生における機能が盛んに研究されてきた。*EWS/FLI1* がある種の細胞に対してトランスフォーム能を有すること、ESFT 様の形質を与えることから、ESFT 発症において融合遺伝子が重要な役割を演じていると信じられているが、その作用機構にはいまだに解明すべき点が残されている。今後は融合遺伝子による ESFT 発症モデルの作製や、ESFT の起始細胞の同定、その起始細胞における *EWS/ETS* の機能解析が期待される。

文 献

- 1) Delattre O, Zucman J, Plougastel B, et al : Gene fusion with an ETS DNA-binding domain caused by chromosome translocation in human tumours. *Nature*. 359. (6391) : 162-165, 1992
- 2) May WA, Gishizky ML, Lessnick SL : Ewing sarcoma 11;22 translocation produces a chimeric transcription factor that requires the DNA-bind-

- ing domain encoded by FLI1 for transformation. Proc Natl Acad Sci 90 : 5752-5756, 1993
- 3) Kovar H : Ewing's sarcoma and peripheral primitive neuroectodermal tumors after their genetic union. Cur Opin in Oncol 10 : 334-342, 1998
 - 4) de Alava E, Kawai A, Healey JH, et al : EWS-FLI1 fusion transcript structure is an independent determinant of prognosis in Ewing's sarcoma. J Clin Oncol 16 (4) : 1248-1255, 1998
 - 5) Smith R, Owen LA, Trem DJ, et al : Expression profiling of EWS/FLI identifies NKX2.2 as a critical target gene in Ewing's sarcoma. Cancer Cell 9 : 405-416, 2006
 - 6) Fukuma M, Okita H, J Hata, et al : Upregulation of Id2, an oncogenic helix-loop-helix protein, is mediated by the chimeric EWS/ets protein in Ewing sarcoma. Oncogene 22 (1) : 1-9, 2003
 - 7) Hahn KB, Cho K, Lee C, et al : Repression of the gene encoding the TGF-beta type II receptor is a major target of the EWS-FLI1 oncoprotein. Nat Genet 23 (2) : 222-227, 1999
 - 8) Triode F, Laud-Duval K, Prieur A, et al : Mesenchymal Stem Cell Features of Ewing Tumors. Cancer Cell 11 : 421-429, 2007
 - 9) Riggi N, Cironi L, Provero P, et al : Development of Ewing's sarcoma from primary bone marrow derived mesenchymal progenitor cells. Cancer Res 65 11459-11468, 2005

Molecular Biology of the Ewing's Sarcoma Family of Tumors

HAJIME OKITA

Department of Developmental Biology, National Research Institute for Child Health and Development

Key words : Fusion gene, Ewing's sarcoma, Transcription factor, Molecular biology.
Jpn. J. Pediatr. Surg., 39(11) ; 1344~1347, 2007.

The Ewing's sarcoma family of tumors (ESFT) are bone and soft tissue sarcomas that occur in children and young adults. Specific chromosomal translocations found in ESFT cause EWS to fuse to a subset of ets transcription factor genes (ETS), generating chimeric EWS/ETS proteins. These proteins are believed to act as an aberrant transcriptional regulator and play a crucial role in the development of ESFT. The mechanisms responsible for the EWS/ETS-mediated tumorigenesis are well studied but remain uncertain. This review highlights recent advances in the molecular biology of ESFT.

* * *