

図5 (a)典型的ESFTの組織像(HE染色)。(b)CD99免疫染色像。びまん性に細胞膜に強く陽性である。

表1 Ewing肉腫ファミリー腫瘍の組織学的所見

典型的所見	Diffuse monotonous proliferation Uniform small round tumor cells Uniform round nuclei containing fine chromatin Inconspicuous nucleoli Fibrillary cytoplasm Indistinct cytoplasmic membrane No ground substance Cytoplasmic glycogen [PAS stain(+)]
時に見られる所見	Homer Wright rosettes Large tumor cell
稀に見られる所見	Spindle cell Clear cytoplasm with distinct cell membrane

った。

融合遺伝子が検索できた症例は19例で、*EWS-FLI1*の発現を認めた症例が10例、*EWS-ERG*の融合遺伝子の発現を認めた症例は5例であった(図4)。4例はこれらの融合遺伝子の発現を認めなかった。なお、この4例の内訳はSRCT、NOSが2例、ESFT否定例が2例で、組織学的に積極的にESFTを疑った症例ではなかった。

ESFTの典型的な組織像は、比較的均一な小円形細胞から成る腫瘍細胞の単調なびまん性増殖であり、その核クロマチンは繊細で、核小体は目立たない。細胞境界は不明瞭で、fibrillaryな細胞質を持ち、背景に基質は乏しい。また、細胞質にグリコーゲンを認め、

Homer Wright型ロゼットを認めることもある(図5-a, 表1)。通常のESFTよりも大型の細胞から成るいわゆるlarge cell Ewing sarcomaと呼ばれる例もある。稀に紡錘形細胞が出現したり、細胞境界明瞭な淡明な細胞からなる病変も見られるとされている。細胞質内のグリコーゲンは検索した16例中8例(50%)、Homer Wright型ロゼットは45例中3例(7%)、large cell Ewing sarcomaは45例中2例(4%)、紡錘形細胞の出現は45例中1例(2%)に認められた。細胞境界明瞭な淡明細胞の出現した症例は検索した45例中にはなかった。

免疫組織化学的結果のまとめを表2に示す。ESFTの診断に有用なマーカーとされているCD99は45例

表2 免疫組織化学的結果のまとめ

Positive markers	Negative markers	Other markers
CD99: 44/45 (98%)	Desmin: 0/30 (0%)	CK-AE1/3: 3/22 (14%)
NSE: 11/18 (61%)	HHF-35: 0/17 (0%)	S-100 protein: 3/31 (10%)
NFP: 3/13 (23%)	Myogenin: 0/5 (0%)	
Vimentin: 4/6 (67%)	CD45: 0/15 (0%)	
	TdT: 0/20 (0%)	
	α -SMA: 0/2 (0%)	
	EMA: 0/2 (0%)	

中 44 例(98%)に、びまん性に細胞膜に陽性であった(図 5-b)。NSE は検索した 18 例中 11 例(61%)、neurofilament は 13 例中 3 例(23%)、vimentin は 6 例中 4 例(67%)に陽性であった。これらの免疫組織化学的マーカーは、ESFT で比較的高頻度に発現する、あるいは ESFT の neuroectodermal differentiation を示すもので、ESFT にとっても positive marker と捉えることができるが、NSE や vimentin は ESFT に全く特異的ではない。Cytokeratin や S-100 protein は ESFT ときに発現を認めることがあるマーカーであるが、cytokeratin (AE1/AE3) は検索した 22 例中 3 例(14%)に、S-100 protein は 31 例中 3 例(3%)に認められた。ESFT では通常陽性とならず、陽性であった場合には逆に ESFT ではなく他の小円形細胞腫瘍を示唆するものは、ESFT にとっての negative marker と考えられるが、表 2 に示すようにこれらはすべて陰性であった。これら negative marker に相当するものとして、desmin, muscle specific actin, myogenin, α -smooth muscle actin, CD45, TdT, EMA など挙げられる。

IV. 考 察

検討した 50 例のうち、カテゴリ 3 の症例は 2 例、カテゴリ 4 の症例は 3 例と少ないのは、CD99 陽性という ESFT の免疫組織化学的特徴と *EWS-FLI1* をはじめとする特異的な融合遺伝子の存在が明らかとなり、PNET などの類縁疾患を含めて ESFT の疾患概念が整理され、小児の他の小円形細胞腫瘍との鑑別点はかなり明らかにされたことによると思われる。カテゴリ 3, 4 を含めて中央病理診断に標本が送付された 50 例のうち 48 例(96%)は CD99 陽性であった。また、HE 像がいわゆる小円形細胞腫瘍の範疇に入るものは 50 例のうち 48 例(96%)であった。したがって、

小円形細胞という腫瘍細胞の形態と CD99 陽性所見とで、大部分の ESFT の病理診断がなされていると推測される。

カテゴリ 4 に分類した 3 例のうち、2 例は紡錘形細胞肉腫に分類したものであったが、1 例は CD99 陽性、1 例は CD99 陰性であった。融合遺伝子は *EWS-FLI1*, *EWS-ERG* ともに発現を認めなかった。滑膜肉腫の可能性を考慮して *SYT-SSX* 融合遺伝子も検索したが、この 2 例は陰性であり、最終的な確定診断には至っていない。残りの 1 例は前縦隔発生例で、CD99 陽性であるが、TdT 陽性、CD3 陽性であり T 細胞性のリンパ芽球性白血病/リンパ腫であった。CD99 陽性の小円形細胞腫瘍であっても ESFT ではない症例があり、実際の診断に際しては注意する必要がある。

カテゴリ 3 に分類した 2 例のうち 1 例は、脱灰のためと思われる HE 標本の形態像の保存が悪く CD99 も陰性であり、また融合遺伝子検索でも *EWS-FLI1* と *EWS-ERG* ともに発現を認めないものであった。もう 1 例は、CD99 陽性の小円形細胞腫瘍であったが、HE 形態像が ESFT の典型的所見と異なり、*EWS-FLI1*, *EWS-ERG* ともに陰性であったため、SRCT, NOS と診断した。後に検体送付もとの施設で行われた融合遺伝子検索で *TLS-CHOP* 融合遺伝子が検出され、最終的には送付もとの施設で小児(16 歳, 男性例)では稀な円形細胞型脂肪肉腫と診断された。

カテゴリ 2 とした 3 例のうち 1 例は、HE 形態像は ESFT に合致するものの壊死が強く認められ、CD99 が陰性であった。また、融合遺伝子は検索できていないため、ESFT との確定診断にいたらず ESFT の疑いとしたものであった。別の 1 例は CD99 陽性、遺伝子検索未施行で、HE 標本の増減が強いため診断を ESFT 疑いにとどめた例であった。残りの 1 例は、小円形細胞に加えて一部に紡錘形細胞の増生があり、

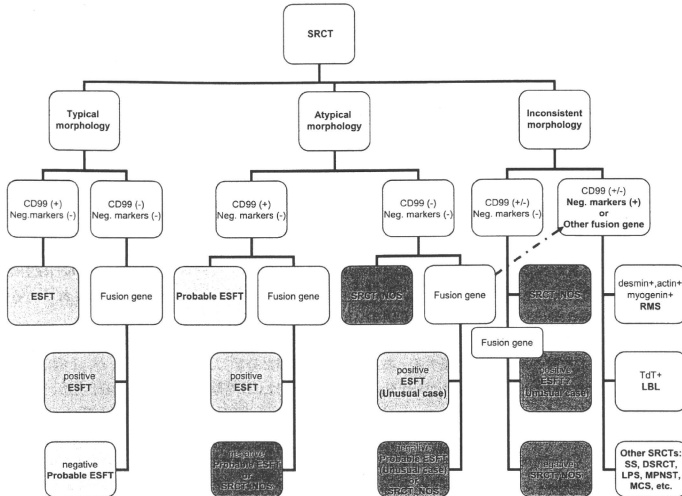


図 6 ESFT 病理診断のアルゴリズム、SRCT: small round cell tumor, ESFT: Ewing sarcoma family of tumors, NOS: not otherwise specified, RMS: Rhabdomyosarcoma, LBL: Lymphoblastic leukemia/lymphoma, SS: Synovial sarcoma, DSRCT: Desmoplastic small round cell tumor, LPS: Liposarcoma, MPNST: Malignant peripheral nerve sheath tumor, MCS: mesenchymal chondrosarcoma

HE 形態像が ESFT に合致しないわけではないが非典型的であり、CD99 は陽性であるが、融合遺伝子の検索が未施行であり、やはり ESFT と確定診断することのできなかったものである。

以上の検討から、HE 形態像が ESFT に合致するものであれば、Homer Wright 型ロゼットがあっても、large cell Ewing sarcoma の範疇に入るやや大型の細胞からなるものであっても、CD99 が陽性であり、かつ、ESFT では陰性となるべき筋系マーカーや TdT や CD45 などの造血器腫瘍・リンパ腫系マーカーなどの negative marker の陰性が確認できれば、融合遺伝子検索を行わなくても、ESFT と確定診断をしている。現状では遺伝子診断のできる施設に限られていることや、たとえ遺伝子診断ができる施設であっても必ずしも全例で行われているわけではないので、日常病理診断の多くの症例はこのようなレベルでの診断となっているものと考えられる。逆に CD99 が陰性の場合には、HE 形態像が合致していても ESFT と確定診断

することがためられ、遺伝子検索によって特異的な融合遺伝子の発現を確認することが確定診断のためには必要と考えられる。遺伝子診断未施行の CD99 陰性例では、たとえ HE 像が合致していても現段階では ESFT 疑いとせざるを得ない。カテゴリー 2 やカテゴリー 3 の範疇の腫瘍では、融合遺伝子を検索することにより診断が確定されることが期待される。したがって、このカテゴリーに属する腫瘍では融合遺伝子の検索を積極的に行うことが推奨される。融合遺伝子の検索はバラフィン切片からも可能ではあるが¹⁸⁾、可能な限り新鮮凍結検体を用いて行うことが望まれるので、遺伝子検索用の検体の保存に留意することが大切である。このような症例についての検討を蓄積することにより形態像と遺伝子変異との関係が明確になり、今後さらに診断精度が向上するものと期待される。カテゴリー 4 では、CD99 陽性の所見のみから誤って ESFT と診断されたものが多いと思われる。したがって、HE の形態像をよく把握することと CD99 に加えて他

の小円形細胞腫瘍を除外するための negative marker をパネルで染色することが重要であり、これが正確な診断につながるものと考えられる。逆に言えば、CD99 陽性所見のみから ESFT の診断に飛びつかないようにしなければならない。これらの結果をふまえた ESFT 診断のためのアルゴリズムを図 6 に示す。

本研究は JESS04 研究の一部であり、JESS04 研究に参加されている施設の関係の諸先生と以下に示す JESS 運営委員の各先生方に感謝致します(敬称略)。

日本大学医学部小児科：麦島秀雄、陳基明

九州がんセンター整形外科：横山良平

国立がんセンター中央病院小児科：牧本 敦

国立がんセンター中央病院整形外科：川井 章

国立がんセンター中央病院放射線治療部：角美奈子

新潟県立がんセンター小児科：浅見恵子

千葉県がんセンター整形外科：石井 猛

岡山大学大学院生体機能再生・再建学：尾崎敏文

文 献

- 1) Ewing J. Diffuse endothelioma of bone. Proc NY Pathol Soc 1921; 21: 17-42.
- 2) 大喜多肇, 秦順一. Ewing 肉腫ファミリー腫瘍の臨床病理. 病理と臨床 2009; 27: 151-5.
- 3) Askin FB, Rosai J, Sibley RK, et al. Malignant small round cell tumor of the thoracopulmonary region in childhood: a distinctive clinicopathologic entity of uncertain histogenesis. Cancer 1979; 43: 2438-51.
- 4) Aurias A, Rimbaut C, Buffe D, et al. Chromosomal translocation in Ewing's sarcoma. N Engl J Med 1983; 309: 496-7.
- 5) Whang-Peng J, Triche TJ, Knutsen T, et al. Chromosome translocation in peripheral neuroepithelioma. N Engl J Med 1984; 311: 584-5.
- 6) Delattre O, Zucman J, Melot T, et al. The Ewing family of tumors: a subgroup of small-round-cell tumors defined by specific chimeric transcripts. N Engl J Med. 1994; 331: 294-9.
- 7) Folpe AL, Goldblum JR, Rubin BP, et al. Morphologic and immunophenotypic diversity of in Ewing family tumors: a study of 66 genetically confirmed cases. Am J Surg Pathol 2005; 29: 1025-33.
- 8) Hisaoka M, Tsuji S, Morimitsu Y, et al. Molecular detection of EWS-FLI1 chimeric transcripts in Ewing family tumors by nested reverse transcription-polymerase chain reaction: application to archival paraffin-embedded tumor tissues. Acta Pathol Microbiol Immunol Scand 1999; 107: 577-84.

