

TFE3 関連融合遺伝子形成を伴う小児腎細胞癌 2 例の臨床病理学的, 細胞遺伝学的, 分子生物学所見の検討

—本邦初報告例—

Clinical, histopathological, cytogenetic, and molecular analysis of pediatric renal cell carcinoma with TFE3-associated chimeric transcripts

—The first Japanese case reports—

加藤 啓輔¹⁾, 田中 水緒¹⁾, 気賀沢寿人²⁾, 田淵 健²⁾, 林 露子²⁾, 大浜 用克³⁾
 福里 吉充³⁾, 鈴木 徹臣⁴⁾, 豊田 恭徳⁴⁾, 相田 典子⁵⁾, 田中 祐吉¹⁾
 Keisuke KATO¹⁾, Mio TANAKA¹⁾, Hisato KIGASAWA²⁾, Ken TABUCHI²⁾
 Tsuyuko HAYASHI²⁾, Yokatsu OHAMA³⁾, Yoshimitsu FUKUZATO³⁾
 Tetsuomi SUZUKI⁴⁾, Yasunori TOYODA⁴⁾, Noriko AIDA⁵⁾, Yukichi TANAKA¹⁾

要 旨

近年, 小児腎細胞癌の一部が Xp11.2 を転座点とする均衡型転座とそれに基づく TFE3 関連融合遺伝子の形成, 特徴的な組織像, 臨床像などを示すことが明らかとなってきた。我々は 2 例の小児腎細胞癌において臨床所見, 組織像, TFE3 関連融合遺伝子の発現の有無を検討した。症例 1 は 4 歳女児, 症例 2 は 10 歳女児である。何れの腫瘍も組織学的に淡明な胞体を持つ腫瘍細胞の胞巣状, 乳頭状の増殖と砂粒小体様石灰化が特徴的であったが, 症例 1 ではより豊かな胞体, 症例 2 では管腔状構築が観察された。症例 1 の検体からは ASPL-TFE3, 症例 2 より PRCC-TFE3 の各融合遺伝子が検出された。症例 1 は切除後 1 年 6 ヶ月, 症例 2 は 7 年 10 ヶ月無病生存中である。成人腎細胞癌と異なる臨床像を呈する可能性があるため, 小児腎細胞癌を経験した際には TFE3 関連融合遺伝子の形成を伴う腎細胞癌を疑う必要がある。

Key words : 小児 腎細胞癌 TFE3 関連融合遺伝子

child, renal cell carcinoma, TFE3-associated chimeric transcript

I はじめに

近年の組織学的 / 細胞遺伝学的知見の集積により, 腎細胞癌はそれぞれ特徴的な細胞起源, 細胞遺伝学的背景を持つ淡明細胞癌, 乳頭状腎細胞癌, 嫌色素細胞癌, 集合管癌, 肉腫様癌に細分類された。成人症例の約 80% は淡明細胞癌で, 約 15% は乳頭状腎細胞癌である。各組織型は, 腫瘍発生機構に関連すると考えられる特徴的な細胞遺伝学

1) 神奈川県立こども医療センター病理科, 2) 同血液科
 3) 同外科, 4) 同腫瘍科, 5) 同放射線科
 1) Divisions of Pathology, 2) Hematology, 3) Surgery,
 4) Oncology, 5) Radiology, Kanagawa Children's Medical Center,
 Yokohama.



図1 症例1 Hematoxylin-eosin 染色組織像。

(A) 乳頭状構築が認められる。

(B) 砂粒小体様石灰化(矢印頭)を伴う淡明で豊かな胞体を持つ腫瘍細胞が認められる。

的所見を示す^{1,2)}。

小児腎細胞癌は稀であるため、小児腎細胞癌に特有の組織像、細胞遺伝学的所見に関する記載は少なかった。しかし1980年代以降、小児/若年成人腎細胞癌に特有な腫瘍細胞染色体所見、すなわちXp11.2を共通の切断点とする染色体転座t(X;1)(p11.2;q21), t(X;17)(p11.2;q25)などが報告され始め、その結果、t(X;1)(p11.2;q21)の切断点からPRCC-TFE3融合遺伝子が、t(X;17)(p11.2;q25)からASPL-TFE3融合遺伝子がクローニングされた³⁾。これまでに5つのTFE3関連融合遺伝子とTFE3遺伝子と相同性の高いTFEB遺伝子が関与したAlpha-TFEB融合遺伝子がクローニングされている³⁾。興味深いことにt(X;17)(p11.2;q25)とASPL-TFE3融合遺伝子は胞巣状軟部肉腫でも見だされている³⁾。これとは別に小児/若年成人腎細胞癌では組織学的に乳頭状構築を示す腎細胞癌の割合が高いことが示された⁴⁾。さらにTFE3関連融合遺伝子を有する腎細胞癌は特徴的な組織像を示し、抗TFE3抗体を用いた免疫染色で腫瘍細胞の核が陽性に染色されることが報告された⁵⁾。以上より小児腎細胞癌の一部は成人腎細胞癌と異なる細胞遺伝学的所見、組織像を示すことが明らかとなった。しかし本邦からはこれまでのところTFE3関連融合遺伝子の形成を伴う腎細胞癌の報告はない。我々はこれまでに3例の腎細胞癌を経験した。このうち新鮮凍結検体が保存

されている2例につき臨床経過、組織所見、細胞遺伝学的所見、TFE3関連融合遺伝子の発現の有無を検討したので報告する。

II 症 例

症例1: 4歳女児。血尿を主訴に近医を経て当センターを受診した。腹部画像検査では造影効果の乏しい境界明瞭な右腎腫瘍が認められた。腎腫瘍生検術が施行され、迅速診の結果、腎細胞癌が疑われ、単純腎摘除術が行われた。術後はインターフェロン(IFN) α 2b(300万単位/m², 週3回)を1年間投与され、1年6ヶ月間再発の所見はない。

症例2: 10歳女児。左側腹部の腫瘍に気づき、近医を経て当センターへ入院した。腹部画像検査で比較的境界明瞭で内部が不規則に弱く造影される左腎腫瘍と腎門部から総腸骨動脈分岐部にわたるリンパ節転移と思われる複数個の腫瘍が認められた。根治的腎摘除術ならびに完全リンパ節郭清を施行され、術後はIFN α 2b(300万単位/m², 週3回)を半年間投与された。術後7年10ヶ月に転院となったが、この間に再発はなかった。

III 方 法

切除腫瘍検体について通常の組織学的検索を行うと共に抗TFE3抗体(Santa Cruze, CA, USA)を用いた免疫染色を行った⁵⁾。さらに新鮮凍結検

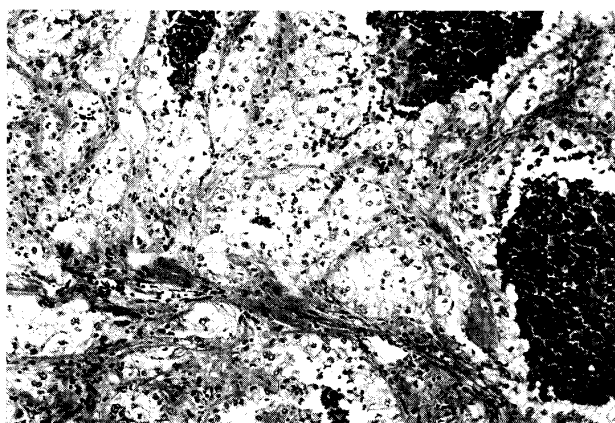


図2 症例2Hematoxylin-eosin 染色組織像。
淡明な胞体を持つ腫瘍細胞の胞巣状腺管状構築からなり、症例1より淡明細胞癌に類似した像を示す。

体より reverse trascription-polymerase chain reaction (RT-PCR) 法ならびに PCR direct sequence 法を用いて TFE3 関連融合遺伝子の発現の有無、塩基配列を調べた。PCR ならびに塩基配列決定に用いた primer は primer ASPL, 5'-aagtccaagtcgggccaggat-3'; primer PRCC, 5'-gaggaaagagcccgtgaagat-3'; primer TFE3, 5'-gtttgatgtstgggcagctcag-3'である。ASPL-TFE3 融合遺伝子の検討には primer ASPL と primer TFE3 を用い、PRCC-TFE3 融合遺伝子の検討には primer PRCC と primer TFE3 を用いた。さらに症例1に関しては通常のGバンド腫瘍細胞染色体分析も行った。

IV 結 果

(1) 組織学的所見

症例1：摘出された右腎髄質深部に直径2.3cmの境界明瞭な腫瘍性病変があり、腎盂内に穿破して尿管近位部内に腫瘍片が存在した。組織学的には、腫瘍は淡明ときに細顆粒状の豊かな胞体を持つ腫瘍細胞の胞巣状もしくは乳頭状構築からなり、砂粒小体様石灰化を伴っていた(図1A, B)。腫瘍細胞は周囲間質に巣状に浸潤しており、腎門部小リンパ節には転移巣もあった。抗TFE3抗体を用いた免疫染色では約50%の腫瘍細胞の核が陽性に染色された。TNM病期分類はpT1apN1M0、

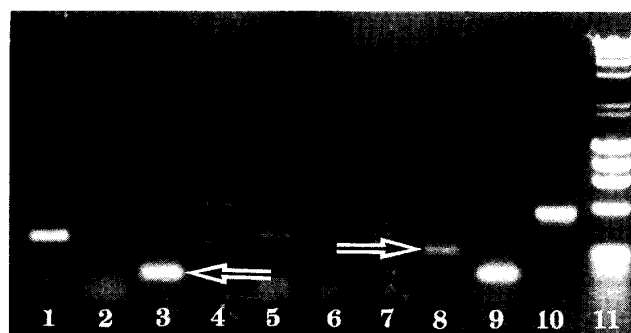


図3 RT-PCR産物ゲル電気泳動の結果。

レーン1, 症例1内因性陽性コントロール;レーン2, 症例1陰性コントロール;レーン3, 症例1ASPL-TFE3 PCR産物;レーン4, 症例1PRCC-TFE3 PCR産物;レーン5, 症例2内因性陽性コントロール;レーン6, 症例2陰性コントロール;レーン7, 症例2ASPL-TFE3 PCR産物;レーン8, 症例2PRCC-TFE3 PCR産物;レーン9, ASPL-TFE3陽性コントロール(胞巣状軟部肉腫症例);レーン10, PRCC-TFE3陽性コントロール(他施設小児腎細胞癌症例);レーン11, 分子量マーカー。レーン3に症例1のASPL-TFE3 PCR産物を示すバンド(矢印), レーン8に症例2のPRCC-TFE3 PCR産物を示すバンドがある(矢印)。

stage IIIと判断された。

症例2：原発巣は内部に壊死巣や出血巣を伴い腎頭側を置換する10.5×7.5×5.5cmの腫瘍で、後腹膜リンパ節は最大で16.0×12.5×5.0cmに腫大していた。原発巣ならびにリンパ節転移巣は組織学的に淡明ときに細顆粒状の胞体を持つ腫瘍細胞の胞巣状、管腔状、乳頭状構築から成り、砂粒小体様石灰化を伴っていた(図2)。抗TFE3抗体を用いた免疫染色では約30%の腫瘍細胞の核が陽性に染色された。TNM病期分類はpT2pN2M0, stage IVと考えられた。

(2) 細胞遺伝学/分子生物学的所見(図3)

症例1：腫瘍細胞染色体分析の結果は46, XX, t(X;17)(X11.2;q25)であった。RT-PCR法による解析ではASPL-TFE3融合遺伝子が陽性であった。塩基配列を調べたところ、PCR産物はASPL遺伝子のexon 7より上流とTFE3遺伝子のexon 6より下流とがin-frameに融合した転写産物であった。

症例2：RT-PCR法による解析ではPRCC-

TFE3 融合遺伝子が陽性であった。PCR 産物は PRCC 遺伝子の exon 2 より上流と TFE3 遺伝子の exon 5 より下流とが in-frame に融合した転写産物であった。

V 考 察

小児腎細胞癌は稀で、小児腎腫瘍の 1.8-6.8% を占めるに過ぎないため⁶⁾、組織像、治療法、予後に関しては、成人腎細胞癌と同一の枠組みで捉えられてきた。しかし、その一部は Xp11.2 を共通の切断点とする染色体転座と TFE3 関連融合遺伝子を有し、典型的な成人腎細胞癌と異なる性質を持つことが明らかとなった³⁾。

TFE3 関連融合遺伝子は腫瘍発生に重要な働きをしていると考えられている^{2,3)}。TFE3 遺伝子産物は DNA 結合転写因子で N 端から activation domain, basic helix-loop-helix DNA binding domain (bHLH), leucine zipper dimerization domain (LZ) を持つ^{2,3)}。ASPL-TFE3 融合遺伝子は exon の組み合わせにより 2 種類の variant が、PRCC-TFE3 融合遺伝子は 4 種類以上の variant があるが^{3,7,8)}、全て TFE3 遺伝子由来の bHLH と LZ を保持しており、この 2 つの機能ドメインが腫瘍発生に重要であると考えられている^{3,7,8)}。PRCC-TFE3 融合遺伝子は転写活性化能を持ち、培養細胞への導入により形質転換能と腫瘍形成能を示す²⁾。また alpha-TFEB 融合遺伝子産物には alpha 遺伝子のコード領域がなく、TFEB 遺伝子の全コード領域のみからなることからパートナー遺伝子のプロモーターを介した TFE3/B 遺伝子由来領域の発現亢進が腫瘍発生機構の一つであると推察されている³⁾。

小児 / 若年成人腎細胞癌の組織学的な所見に関して Renshaw らは 24 例中 19 例が乳頭状構築を呈する（“乳頭状腎細胞癌”ではない）とした⁴⁾。彼らはその 19 例を細分類し、成人乳頭状腎細胞癌に類似した adult-like type と小児 / 若年成人に特徴的なその他の 3 亜型、collecting duct type, voluminous type, neuroendocrine type に分け、典型的な成人腎細胞癌とは異なる組織像を示す小児 / 若年成人例があることを示した⁴⁾。これらの

3 亜型の中に TFE3 関連融合遺伝子の形成を伴う腎細胞癌が含まれていると考えられる。なかでも voluminous type は豊かな胞体の特徴であるが、t(X;17)(p11;q25) を示す腫瘍がこれに含まれており^{4,8)}、我々の症例 1 もこれに相当すると思われる。

TFE3 関連融合遺伝子の形成を伴う腎細胞癌は砂粒小体様石灰化、一部にみられる淡明な胞体を持つ腫瘍細胞の乳頭状の配列などが特徴であるとされている^{5,7)}。典型的な乳頭状腎細胞癌では TFE3 遺伝子再構成はないと報告されており、小児の砂粒小体様石灰化を伴う淡明細胞癌に類似した例が TFE3 関連融合遺伝子の形成を伴う腎細胞癌である可能性が高い^{5,7)}。我々の症例 2 は当初、淡明細胞癌と診断されていたが、一部に見られる乳頭状構築、砂粒小体様石灰化などは TFE3 関連融合遺伝子の形成を伴う腎細胞癌に特徴的な像と考えられた。

TFE3 関連融合遺伝子の形成を伴う腎細胞癌の診断は組織学的検索のみでは困難である^{5,7)}。この点で抗 TFE3 抗体を用いた免疫染色が有用であると報告されている^{5,7)}。TFE3 関連融合遺伝子の形成を伴う腎細胞癌では PRCC あるいは ASPL 遺伝子のプロモーターを介した発現亢進があるため、TFE3 遺伝子産物 C 末端を認識する抗 TFE3 抗体を用いた免疫染色で腫瘍細胞の核が陽性に染色されると考えられており^{3,5)}、我々の 2 症例でも陽性に染色された。しかし TFE3 関連融合遺伝子の形成を伴う腎細胞癌の確定診断には腫瘍細胞染色体分析での Xp11.2 転座の確認もしくは、RT-PCR 法を用いた融合遺伝子の検出が必要である^{3,7,8)}。従って染色体分析の施行もしくは後の検索のための新鮮凍結検体保存が望ましい。

TFE3 関連融合遺伝子の形成を伴う腎細胞癌は、融合遺伝子の種類により若干異なる臨床像、組織像を示すと報告されている^{3,7,8)}。Argani らの報告によると ASPL-TFE3 融合遺伝子陽性例は男女比が 3:5 で、年齢は 2-17 歳、臨床的には早期のリンパ節転移が、組織学的にはより豊かな胞体の特徴である⁸⁾。また PRCC-TFE3 融合遺伝子陽性例は男女比が 4:7 で、年齢が 9-64 歳と ASPL-TFE3 陽性例に比較して高い⁷⁾。臨床的には緩徐

進行性ではあるが晩期再発の可能性があり、組織学的には、より淡明細胞癌に類似した組織像が特徴と報告されている⁷⁾。我々の症例 1,2 の組織像、臨床像は彼らの指摘と概ね合致していると考えられる。

TFE3 関連融合遺伝子の形成を伴う腎細胞癌の適切な診療指針は明らかにされてない。報告例の多くは腎摘除術を受け、一部は IFN α を投与されているが^{7,8)}、背景となる細胞遺伝学的所見に応じた治療が選択されるべきである。ASPL-TFE3 融合遺伝子陽性例は早期からリンパ節へ転移することが指摘されているので⁸⁾、リンパ節郭清あるいは何らかの術後療法が必要と考えられ、PRCC-TFE3 融合遺伝子陽性例はより長期間の経過観察が必要と思われる。成人例ではほとんど試みられない放射線局所照射や化学療法への感受性を小児腎細胞癌が有する可能性を指摘する報告もあり⁶⁾、TFE3 関連融合遺伝子の形成を伴う腎細胞癌でも検討の余地がある。stage IV である我々の症例 2 の経過から示唆されるように、IFN 療法が効果的である可能性もある。TFE3 関連融合遺伝子が腫瘍抗原となる可能性に関しては今後の検討が必要であるが、同種骨髄移植などの免疫療法も検討の余地がある。

TFE3 関連融合遺伝子の形成を伴う腎細胞癌は TFE3 免疫染色の検討から小児腎細胞癌の 26-41% を占めると報告されている³⁾。しかし症例数は少ないものの当センターでの分子生物学的な検討では腎細胞癌 3 例のうち少なくとも 2 例がそれに相当した。これから示唆されるように、小児腎細胞癌における TFE3 関連融合遺伝子の形成を伴う例の実際の割合はさらに高い可能性がある。我々は以前、当時は典型的な淡明細胞癌と判断した神経芽腫発症後の小児腎細胞癌例を報告したが⁹⁾、神経芽腫の既往がある症例も特異な細胞遺伝学的背景を持つと指摘されている¹⁰⁾。これらのことから示唆されるように、相当数の小児腎細胞癌は成人例と異なる細胞遺伝学的背景を持つと考えられる³⁾。従って小児腎細胞癌を成人例と全く同一の腫瘍として扱うことは適当ではない。今後、小児腎細胞癌を経験した際には小児特有の腎

細胞癌の可能性を疑い、腫瘍細胞染色体分析、凍結検体保存、TFE3 関連融合遺伝子検索等を行う必要がある。これらの所見の集積が小児腎細胞癌の適切な治療、予後の解明につながると考えられる。

本研究の要旨は第 19 回小児がん学会 (2003 秋 東京) で発表した。なお本研究は財団法人かながわ健康財団の援助を受けた。

文 献

- 1) 腎癌取り扱い規約改訂委員会：泌尿器科，病理，放射線科 腎癌取り扱い規約（第 3 版），日本泌尿器科学会，病理学会，医学放射線学会編，金原出版，東京，1999, pp41-99
- 2) Bodmer D, et al: Understanding familial and non-familial renal cell cancer. *Hum Mol Genet*, 20:2489-2498, 2002
- 3) Argani P, Ladanyi M: Distinctive neoplasms characterized by specific chromosomal translocations comprise a significant proportion of paediatric renal cell carcinomas. *Pathology*, 35:492-498, 2003
- 4) Renshaw AA, et al: Renal cell carcinomas in children and young adults: increased incidence of papillary architecture and unique subtypes. *Am J Surg Pathol*, 23:795-802, 1999
- 5) Argani P, et al: Aberrant nuclear immunoreactivity for TFE3 in neoplasms with TFE3 gene fusions: a sensitive and specific immunohistochemical assay. *Am J Surg Pathol*, 27:750-761, 2003
- 6) Indolfi P, et al: Renal cell carcinoma in children: a clinicopathologic study. *J Clin Oncol*, 21:530-535, 2003
- 7) Argani P, et al: PRCC-TFE3 renal carcinomas: morphologic, immunohistochemical, ultrastructural, and molecular analysis of an entity associated with the t(X;1)(p11.2;q21). *Am J Surg Pathol*, 26:1553-1566, 2002
- 8) Argani P, et al: Primary renal neoplasms with the ASPL-TFE3 gene fusion of alveolar soft part sarcoma: a distinctive tumor entity previously included among renal cell carcinomas of children and adolescents. *Am J Pathol*, 159:179-192, 2001

9) Kato K, et al: Metachronous renal cell carcinoma in a child cured of neuroblastoma. Med Pediatr Oncol, 33:432-433, 1999

10) Medeiros LJ, et al: Oncocytoid renal cell carcinoma after neuroblastoma: a report of four cases of a distinct clinicopathologic entity. Am J Surg Pathol, 23:772-780, 1999