

小児横紋筋肉腫の病理診断

最近の知見と JRSO 中央病理診断の成果を踏まえて

北條 洋

I はじめに

第 24 回日本小児がん学会 (2008 年, 千葉, 幕張メッセ) 教育セッションで「小児横紋筋肉腫の病理診断」と題して解説し, その要旨は教育セッションテキスト (p28-34), 小児がん (46: 153-161, 2009) に報告した. IRSG/COG, STS で採用されてきた ICR (International Classification of Rhabdomyosarcoma) 分類¹⁻³⁾のコンセンサス病理診断を中心に解説したが, 近年, 横紋筋肉腫の遺伝子研究の進歩により新たな知見を加味した予後予測の可能な臨床研究に最適の分類, すなわち新たなコンセンサス病理診断基準が模索されている. 2009 年, IRSG/COG, STS メンバーによる CAP (The College of American Pathologists) Cancer Protocol (<http://www.cap.org>) に横紋筋肉腫の新取扱いガイドラインと分類 (CAP Protocol 分類) が公表されている. また, JRSG-I Study の 2 つのプロトコル研究が終了し, 2010 年 6 月までの登録 197 症例の JRSG 中央病理診断委員会中間報告を行った. この機会に JRSG 中央病理診断の成果について紹介し, さらに JRSG-II Study に向け, ICR 分類, WHO 分類⁴⁾, CAP Protocol 分類の内容を比較整理した新たな小児横紋筋肉腫のコンセンサス病理診断クライテリアについて出来るだけ前回との重複しないよう解説する. 誌面の関係上, 組織図を割愛したが, 病理と臨床 26: 945-959, 2008 腫瘍病理鑑別診断アトラス「軟部腫瘍, 横紋筋肉腫」p75

88. 2011 を参照されたい.

II 横紋筋肉腫のコンセンサス病理診断の基礎

横紋筋肉腫の組織分類は現在、表1に示す分類が純形態学的分類と考えるが、WHO分類、CAP Protocol分類を含め、各組織型のコンセンサス病理診断の基本はICR分類(表2)にあり、各分類のクライテリアを整理し理解する上で重要である。

1. ICR 分類, WHO 分類, 2009 年 CAP protocol 分類の相違点と 3 分類に基づくコンセンサス病理診断のポイント (表 3, 4, 図 1)

3者とも分類の方針に大きな差異はなく、小児横紋筋肉腫の組織分類は embryonal rhabdomyosarcoma (ERNS NOS, botryoid ERMS, spindle cell ERMS), alveolar rhabdomyosarcoma (ARMS NOS, ARMS solid, mixed ERMS and ARMS) の6亜型で、これに、歴史的、便宜的に undifferentiated sarcoma を加えた7型に分けられている。しかし、2009年CAP Protocol分類

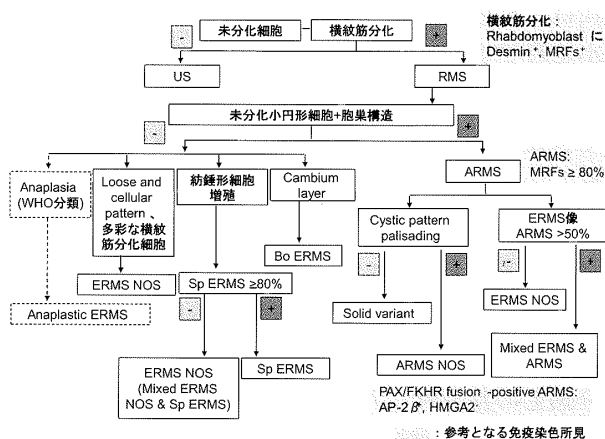


図1 小児横紋筋肉腫病理診断のフローチャート
(ICR分類, CAP Protocol分類に対応)

表1 横紋筋肉腫の組織分類

Embryonal rhabdomyosarcoma 胎児型横紋筋肉腫
Embryonal rhabdomyosarcoma, NOS 胎児型 (非特異群)
Botryoid embryonal rhabdomyosarcoma ぶどう 状型
spindle cell embryonal rhabdomyosarcoma 紡錘 形細胞型
Alveolar rhabdomyosarcoma 胞巣型横紋筋肉腫
Alveolar rhabdomyosarcoma, NOS 胞巣型 (非特 異群)
Alveolar rhabdomyosarcoma, solid variant (充 実亜型)
Mixed embryonal and alveolar rhabdomyosarco- ma (胎児胞巣混合型)
Pleomorphic rhabdomyosarcoma 多形型横紋筋肉 腫

では組織型の診断基準がより明確となり、紡錘細胞型と胎児型胞巣型混合型の病理診断クライテリアは従来の ICR 分類や WHO 分類と異なっている。COG STS では CAP Protocol 分類が採用されており、CAP Protocol 分類が世界的スタンダードとなっていくと思われる。JRS-G-II Study でも CAP Protocol 分類による中央病理診断を開始する予定である。3 分類の相違点、3 分類に基づく組織型決定のためのコンセンサス病理診断のポイントと注意点、ならびに病理診断チャートを表 3、4、図 1 にまとめたが、診断のポイントはコンセンサス病理診断のクライテリアを厳格に守ることにある。

2. コンセンサス病理診断のクライテリア

各分類組織型やカテゴリーにおけるクライテリアについて解説する。

a. ぶどう状型 Botryoid ERMS

ERMS の 1 亜型である。ぶどうの房状 (botryoid はぶどうを意味するギリシャ語の “botryos” に由来) の肉眼的特徴から名付けられたが、組織型診断の条件は 1 か所以上の cambium layer の確認であり、ぶどうの房状の肉眼的特徴は必須条件ではない。従って cambium layer が全く確認できない場合は ERMS NOS と判定して良い。Cambium layer は正常上皮下の横紋筋分

表2 小児横紋筋肉腫の ICR 分類

基本分類

I. Superior prognosis 予後良好群

- a. Embryonal, Botryoid (FH*) ぶどう状型
- b. Embryonal, spindle cell (FH) 紡錘形細胞型

II. Intermediate prognosis 中間群

- a. Embryonal, NOS (FH) 胎児型

III. Poor prognosis 予後不良群

- a. Alveolar, NOS or solid (UH**) 胞巣型
- b. Undifferentiated sarcoma (UH) 未分化肉腫

付記事項と記述的診断名

- ・ Mixed category (histology) 混合カテゴリー
- ・ Anaplasia, diffuse or focal 退形成
- ・ RMS, NOS
- ・ Sarcoma, NOS

* 特異な形態を示す横紋筋肉腫

- ・ RMS with rhabdoid features ラブドイド横紋筋肉腫
- ・ Sclerosing RMS 硬化性横紋筋肉腫
- ・ Clear cell RMS 淡明細胞性横紋筋肉腫
- ・ Lipid-rich RMS 富脂肪性横紋筋肉腫

*Favorable histology **Unfavorable histology

化を示す未分化細胞の高密度増殖巣と定義され、その下には疎な領域を認める。このクライテリアの採用により生検検体や浸潤部位の検体でも診断が可能である。

b. 紡錘細胞型 Spindle cell ERMS

ERMS の 1 亜型である。傍精巣や眼窩発症例は superior prognosis とされるが、これ以外の部位発症例は intermediate prognosis を示し、ERMS NOS に匹敵する。組織学的には横紋筋分化を示す長紡錘形細胞が種々の程度に膠原線維の増生を伴い不規則な fascicular or storiform pattern を示して増殖する像を特徴とする。2009 年 CAP Protocol 分類では spindle cell ERMS 領域の占拠率が明確となり、少なくとも 80% 以上を占める際に紡錘細胞型と診断する。Spindle cell ERMS が 20% 未満の mixed ERMS NOS and spindle cell ERMS は ERMS NOS に分類される。細胞密度が高く平滑筋肉腫様、線維肉腫様の像を

表3 ICR 分類, WHO 分類, CAP Protocol 分類の比較

ICR 分類 (1995)	WHO 分類 (2002)	CAP protocol 分類 (2009)*
Embryonal RMS ERMS NOS Spindle cell ERMS	Embryonal RMS Spindle cell variant	Embryonal RMS Embryonal, NOS Embryonal, spindle cell (≥80% of spindle cell ERMS)
Botryoid ERMS	Botryoid variant Anaplastic variant	Embryonal, botryoid
Alveolar RMS ARMS NOS Solid variant	Alveolar RMS Solid variant Mixed ERMS and ARMS	Alveolar RMS ARMS NOS Solid variant Mixed ERMS and ARMS (>50% of ARMS)
Undifferentiated sarcoma		Undifferentiated sarcoma
Mixed category Mixed ERMS and ARMS** Mixed ERMS NOS & spindle cell ERMS***		
Anaplasia, focal and diffuse ERMS»ARMS		Anaplasia, focal and diffuse
RNS NOS		Rhabdomyosarcoma, subtype indeterminate
	Pleomorphic RMS embryonal pattern (-) alveolar pattern (-) one specific marker	

* <http://www.cap.org/> Cancer Protocols, Rhabdomyosarcoma からの抜粋

*** ERMS NOS or spindle cell ERMS に分類

** ARMS に分類

呈するもの (collagen-poor form) と間質の増生が強く悪性線維性組織球腫に類似の像示すもの (collagen-rich form) があり, 軟部腫瘍の鑑別に注意が必要である。小児と成人では予後に差異があり, 病理学的, 分子生物学的検討が望まれる。

c. 胎児型 (非特異群) ERMS NOS (not otherwise specified)

最も頻度の高い組織型 (40-50%) で, 基本的な組織像は類円形, 短紡錘形, 星芒状腫瘍細胞の myxoid stroma を背景とした細胞密度の異なる増殖性病変 (loose and cellular pattern) として認識される。高分化領域では好酸性の細胞質を示す ribbon-, or strap-shaped cells, tadpole cells と称される多彩な腫瘍細胞や多核巨細胞が出現するが, 細胞質に横紋構造 cross-striations が確認される例は半数未満で免疫染色でも未分化細胞に筋分化

が確認できないことがある。ERMS NOS や botryoid ERMS では血管線維性隔壁 fibrovascular septa を伴わない microcystic/microglandular pattern や未分化細胞の充実性増殖が出現することがあるが, これを ARMS の組織像と誤らないことが重要である。Well-differentiated ERMS と fetal rhabdomyoma との鑑別に際して, 高細胞密度, 核分裂像の増加 (>15/50HPF), 異型核の出現などは前者の特徴と判断する。

d. 胞巣型 (非特異群と充実型) ARMS NOS or solid variant

未分化円形細胞が fibrovascular septa に沿う列状配列 palisading と内側の cleft-like space から成る classic cystic pattern の認識が診断上最も重要であり, その腫瘍内占拠率は問われない。横紋筋分化に乏しい未分化な細胞形態と any classic

表4 コンセンサス病理診断のポイントと注意点 (ICR 分類, CAP Protocol 分類に対応)

組織型	組織クライテリア
Embryonal, botryoid	1ヶ所以上の cambium layer (必須), ぶどうの房状肉眼所見 (必須条件でない). Cambium layer が確認できない場合は ERMS' NOS と判定して良い.
Embryonal, spindle cell	≥80%の紡錘形細胞 (種々の分化) の増殖領域. Collagen-poor and collagen-rich forms がある.
Embryonal, NOS	Classic loose and cellular pattern と多彩な細胞像. Fibrovascular septa を欠く microcystic pattern に注意 (ARMS と診断しない). 充実性増殖あり.
Alveolar, NOS or solid	未分化小円形細胞の増殖, fibrovascular septa に沿う palisading と any classic cystic pattern の認識. Solid variant でも palisading が手掛かり. 厳格に診断基準を守る.
Mixed alveolar and embryonal	ARMS 領域 (>50%)と ERMS の2基本型の複合. ARMS に区分.
Undifferentiated sarcoma	非横紋筋系小円形軟部肉腫. 横紋筋への分化の証明 (-).
Mixed category (histology)	2基本型以上, Mixed ERMS & ARMS のうち ARMS の領域が ≤50%は ARMS に区分. Mixed ERMS and spindle cell ERMS は後者の像が <20%に制限され, ERMS' NOS に分類.
Anaplasia, diffuse or focal	どの組織型にも出現し, 退形成の基準は腎芽腫に準じる. 単独の予後因子と証明されず, anaplasia を示す RMS は4基本組織型のいずれかに分類. 有無と grade (diffuse or focal) を付記.
RMS, NOS	採取量の限定, 壊死, 挫滅等で各組織型の特徴が確認できない場合に用いる. CAP Protocol 分類で rhabdomyosarcoma, subtype indeterminate に相当. 免疫学的特徴 (desmin, MRFs) の確認必須.
Sarcoma, NOS	Non-RMS での確な帰属・分類が不可能な際に用いる.

表5 横紋筋への分化を示す腫瘍と構成組織系

横紋筋など多様な形質を示す小円形細胞腫瘍 (小児・青年)
・横紋筋肉腫
・ユーイング肉腫ファミリー腫瘍: 神経外胚葉, 横紋筋, グリア, 上皮
・Polyphenotypic/biphenotypic sarcoma: 神経外胚葉, 横紋筋
・外胚葉間葉腫: 神経芽細胞, 横紋筋
・胸膜肺芽腫: 間葉, 横紋筋, 軟骨
・間葉性軟骨肉腫: 間葉, 横紋筋, 軟骨
・NF1 関連悪性神経鞘腫: 末梢神経, 横紋筋 (Triton 腫瘍), 上皮
胎児性腫瘍 (小児)
・Wilms 腫瘍
・肝芽腫
・髄筋芽腫
他の肉腫 (成人)
・悪性神経鞘腫: 末梢神経, 横紋筋 (Triton 腫瘍), 上皮
・脂肪肉腫 (脱分化型, 粘液型/円形細胞型): 脂肪, 横紋筋
・胚細胞腫瘍: 胚細胞腫成分, 横紋筋
癌肉腫 (成人)

cystic pattern が ARMS のクライテリアである. Ribbon-, or strap-shaped cells など多彩な細胞が出現し, 著しい myogenesis を伴う ARMS があり, ERMS と鑑別が必要である. Solid variant

はより単一な未分化円形細胞が充実性シート状に増殖し, 列状配列 palisading が唯一診断の手掛かりとなる. しかし, 採取量が限定される生検材料での solid variant の診断には Ewing sarcoma

表6 横紋筋肉腫の主な遺伝子異常

・キメラ遺伝子 (ARMS, ごく稀に ERMS) - ARMS: <i>PAX3-FKHR (FOXO1A)</i>; t(2; 13) (q35; q14) <i>PAX7-FKHR (FOXO1A)</i>; t(1; 13) (p36; q14) <i>PAX3-AFX (FOXO4, MLLT7)</i>; t(2; X) (q35; q13) <i>PAX3-NCOA1 (SRC-1)</i> type I, type II; t(2; 2) (q35; p23) <i>PAX3-NCOA2</i>; t(2; 8) (q35; q13) - ERMS: <i>PAX3-NCOA2</i>; t(2; 8) (q35; q13) ・11p15 LOI/UPD, LOH - ERMS (LOI は ARMS にもある) ・MYCN amplification (low or high copy) - Low: ERMS & ARMS - High: ERMS < ARMS (ARMS では DNA と RNA に相関) ・その他: <i>FKHR amplification</i>	
<i>PAX3: paired box 3</i>	<i>PAX7: paired box 7</i>
<i>FKHR: forkhead in human rhabdomyosarcoma</i>	
<i>AFX: acute-lymphocytic-leukaemia-1 fused gene from chromosome X</i>	
<i>FOXO1: forkhead box O1</i>	<i>NCOA: nuclear receptor coactivator</i>
LOI: loss of imprinting	UPD: uniparental disomy
LOH: loss of allelic heterozygosity	

family of tumors, desmoplastic small round cell tumor, poorly differentiated monomorphic synovial sarcoma, malignant lymphoma (Burkitt lymphoma, lymphoblastic lymphoma), round cell liposarcoma, INI1-negative undifferentiated sarcoma など他の小円形細胞腫瘍と鑑別が必要で慎重を要する。ERMS と ARMS の像が存在する mixed ERMS and ARMS は混合カテゴリーの一つとして取り扱われ、ARMS に分類されてきたが、2009 年 CAP Protocol 分類では、ARMS の像が 50% を超えるものを ARMS の mixed ERMS and ARMS に、50% 以下の例は ERMS 群に分類される。

e. 未分化肉腫 US

US は非横紋筋系小円形軟部肉腫 non-rhabdomyosarcomatous small cell soft tissue sarcoma と定義され、歴史的、便宜的な組織型として用いられているが、論議も多い。一般には横紋筋肉腫に類似の形態を示すが横紋筋への分化を証明出来ない腫瘍群と理解され¹⁾、IRSG に登録された腫瘍の 3% を占める。歴史的に RMS に類似の治療反応を示してきたことが ICR 分類の一型として取り扱われた理由の一つとされ、現在では COG non-rhabdomyosarcomatous soft tissue regimen

により治療されている。今後、基本分類から除外されていくと思われる。真の未分化肉腫は未熟な円形から短紡錘形細胞の密なシート状増殖からなり、一般に形質発現を欠き vimentin のみが陽性である。US の診断には免疫組織学的、超微形態学的、細胞遺伝学的・分子生物学的に他の腫瘍を除外することが求められる。

f. 混合カテゴリー mixed category (histology)

以前より IRSG では mixed category を設けてきた。上述の 5 つの基本組織型の 2 型以上が複合するもので、mixed ERMS and ARMS が約 80% を占めるが、他に mixed ERMS NOS and spindle cell ERMS, mixed botryoid ERMS and ARMS NOS などが認められる。検鏡の許された IRS-V の症例 135 例中の頻度は 14.1% (19 例) で、その中で mixed ARMS and ERMS が 84% (16 cases), mixed ERMS NOS and spindle cell ERMS が 16% (3 cases) でともに好発部位の一つは傍精巣であった。

2009 年 CAP Protocol 分類では mixed ERMS NOS and spindle cell ERMS は spindle cell ERMS が 20% 未満のものに限定され、ERMS NOS と診断される。Mixed ERMS and ARMS は ICR 分類や WHO 分類では全て ARMS とされたが、

ARMS の項でも記載したように、2009 年 CAP Protocol 分類では ARMS の像が 50%を超えるものを mixed ERMS and ARMS と診断し ARMS に分類する。これは mixed ERMS and ARMS の大部分が PAX-FKHR fusion negative で fusion negative ARMS の gene expression profile や予後が ERMS にほぼ同じとの報告が大きく関わると思われる。しかし、微小検体では ARMS の占拠率の判断は困難なことが多く、PAX-FKHR キメラ遺伝子陽性例を ERMS と判定する危険があり、注意が必要である。今後、遺伝子型と予後を反映した形態学的分類が求められ、新たな研究テーマの一つである (6. 遺伝子異常の項参照)。

g. 退形成 anaplasia, diffuse or focal

小児では成人と異なり多形性を示す RMS でも 5 つの基本組織型のいずれかの形態が認められることから、ICR 分類では成人を対象とした多形型横紋筋肉腫 pleomorphic rhabdomyosarcoma を基本的な組織型から除外し、退形成としてその生物学的特徴を捉えようとしてきた。定義は NWTS における腎芽腫の anaplasia の基準に準じている。1) 通常、周囲の腫瘍細胞の核の 3 倍以上の大型、分葉状の濃染核、2) 明確な異型核分裂、特に多極性分裂を示す。単一 (少数かごく散在性にのみ出現し周囲に anaplasia のないもの) に認めるものを focal (Group I)、さらに集簇性、連続して広範囲に分布するものを diffuse (Group II) としている。Qualmann は diffuse anaplasia を示す ERMS や ARMS を poor prognosis の unfavorable histology として anaplastic diffuse type に分類することを試みた²⁾。Qualmann はさらなる検討で、anaplasia (focal or diffuse) 群で embryonal histology の中間リスク群のみで 5 年生存率に差異 (anaplasia (-): 68%, anaplasia (+): 82%) があり、この群の予後予測因子として重要であることを報告しているが⁵⁾、anaplasia は単独の予後因子とは証明されず、最近の治療プロトコルでも anaplasia を層別化の対象とはしていない。WHO 分類では ERMS anaplastic variant と分類されるが、IRSG/STS 基本分類や 2009 年 CAP protocol 分類から除かれてい

る。しかし、予後予測の認知、層別化臨床研究の立案にとって anaplasia は重要な因子で、存在の有無と grade (diffuse or focal) を診断名に付記することが求められる。

h. RMS NOS と Sarcoma NOS

Newton により定義されたこの 2 つの診断名は実践的意味合いが強い¹⁾。小児では標本採取量が限定され十分でないことも多く、また、挫滅の強い組織が提出されることがあり、各組織型の特徴が見出せない際にはこれらの診断名が適用される。RMS NOS の診断は免疫学的特徴の確認 (desmin, myogenin/myf4, myoD1 の蛋白発現) に依ることが多い。2009 年 CAP Protocol 分類では rhabdomyosarcoma, subtype indeterminate がこの項目に相当する。プロトコル研究の厳格性を保ち、また、研究不適格症例の治療法を選択する上で重要な意義を持っている。

3. 特異な組織形態を示す横紋筋肉腫 RMS with specific histologic pattern

独特の細胞像や間質の変化に特徴付けられる横紋筋肉腫で、形態像に着目した疾患概念である。ラブドイド横紋筋肉腫⁶⁾、硬化性横紋筋肉腫⁷⁾、淡明細胞性横紋筋肉腫⁸⁾、富脂肪性横紋筋肉腫⁹⁾が挙げられるが、CAP Protocol 分類ではラブドイド横紋筋肉腫と硬化性横紋筋肉腫が取り上げられている。

4. 小円形細胞腫瘍、ならびに筋系分化を示す腫瘍群の鑑別診断 (表 5)

横紋筋肉腫と鑑別が必要な固形腫瘍は 2 つに大別される。発生部位や細胞学的特徴 (小型、細胞質に乏しい、裸核状) の類似性を示す小円形細胞腫瘍 (SRCT: small round cell tumor) と骨格筋への分化を認める一群の腫瘍 (表 5) で、特に AEWS と SRCT の鑑別が重要である。免疫染色や遺伝子診断が最も威力を発揮するが、特に myogenesis に関連するマーカーが発現し polyphenotypic differentiation を示す SRCT では鑑別に慎重を要する¹⁰⁾。

5. 免疫組織化学

a. Myogenic regulatory factors (MRFs) の活用と非筋系マーカーの発現

骨格筋分化 myogenesis の転写制御ネットワークを形成する MRFs/MyoD family と呼ばれる遺伝子群が発見された。MyoD1/myf3, myf5, myogenin/myf4, MRF4/myf6 が知られ、例外的のもの (desmoid, myofibromatosis, infantile fibrosarcoma, synovial sarcoma) を除いて MRFs 蛋白の核への発現は骨格筋系腫瘍に特異的なマーカーとされる¹¹⁾。COG の STSC では RMS の診断に desmin, myoD1, myogenin/myf4 の発現を最重視している。ARMS では陽性率が通常 50% 以上で 80% を越えるものも多く、myogenin 陽性率が 80% を越える ARMS や ERMS は予後不良と報告される¹²⁾。一方、ERMS では 10% 以下が症例の過半数を占める^{11,13)}。RMS では MRFs や他の筋系マーカー、神経系、上皮系などの多彩な形質を示す症例がある。

b. TFAP2 β , HMGA2 免疫染色による組織型の鑑別

RMS の分子生物学的分類 molecular classification が試みられ、形態学的に fusion-positive ARMS と区別できない fusion-negative ARMS や mixed ARMS and ERMS の分類上の位置付、層別化と治療選択が新たに問題視されている (6. 遺伝子異常の項参照)。免疫組織学的な判別法の一つとして、COG から TFAP2 β , HMGA2 免疫染色が ERMS, fusion-negative ARMS, fusion-positive ARMS を区別する上で有用との報告がなされた¹⁴⁾。Gene expression analysis に基づき選択された遺伝子蛋白で ERMS では全例 TFAP2 β (-) HMGA2 (+) を示し、fusion-negative ARMS では TFAP2 β (-) HMGA2 (+) の頻度が高く、一方 fusion-positive ARMS では TFAP2 β (+) HMGA2 (-) の頻度が高いとされた。

PAX-FKHR キメラ遺伝子解析を行った JRSG の 100 例を超える症例の検討では、核発現を陽性とする ERMS では COG の結果と異なり TFAP2 β (-) HMGA2 (+) の 3 例を除き全例が TFAP2 β (+) HMGA2 (+) を示した。一方、ARMS 群では 80% が TFAP2 β (+) HMGA2 (-) で、特に fusion-positive ARMS は 92% と高

率で有意の差 ($p < 2.2 \times 10^{-16}$) を示した。HMGA2 免疫染色は ERMS と ARMS の鑑別、特に fusion-positive ARMS の診断補助として極めて有用と結論された。

6. 遺伝子異常

a. ARMS における PAX-FKHR キメラ (融合) 遺伝子発現 (表 6)

Solid variant を含む ARMS には特異な PAX3/7-FKHR (FKHR は FOXO1A と呼ばれる) のキメラ遺伝子 chimeric gene の発現がよく知られ、ARMS の 80-85% に検出される。さらにまれな PAX3-AFX (AFX は FOXO4, MLLT7 と呼ばれる), PAX3-NCOA1 融合 (NCOA1 は SRC-1 と呼ばれる), PAX3-NCOA2 融合も報告される^{15,16)}。Parham による COG の解析結果によると ARMS で PAX3-FKHR-positive, PAX7-FKHR-positive, PAX3/7-FKHR fusion-negative はそれぞれ 55%, 20%, 25% を占める¹⁷⁾。本邦での JRSG I 研究では ARMS NOS, solid variant の 85% に PAX3/7-FKHR のキメラ遺伝子が検出され、欧米と共通の遺伝子異常を基盤としていることが明確になっている。一方、ERMS では最近、PAX3-NCOA2 融合が報告されている。Mixed ERMS and ARMS の可能性を否定できないが、PAX3-NCOA2 positive ARMS との発癌メカニズムの違いは不明である。

近年、fusion-negative ARMS について IRS-III~V Study で新たな興味ある遺伝子解析結果が報告されている。Fusion-negative ARMS は fusion-positive ARMS に比較し superior prognosis を示す傾向にあり (有意差はない)¹⁸⁾、gene expression profile は ERMS に近似することが示された¹⁹⁾。さらに fusion-negative ARMS と fusion-positive ARMS を比較すると overall survival, event free survival は有意差を持って fusion-negative ARMS が高く、予後曲線は ERMS に匹敵するとヨーロッパのグループから最新の報告があり^{12,20)}、fusion-negative ARMS は fusion-positive ARMS と異なり gene microarray profiling も ERMS に近似すると述べられている。

また, mixed ARMS and ERMS は aggressive embryonal clone の増殖と推測されるが³⁾, 一部を除いて PAX-FKHR fusion は検出されず, gene expression profile は ERMS に近似している²¹⁾. 従って, fusion-negative ARMS と mixed ARMS and ERMS は共通した genotype を有する可能性が推測され, 新たな層別化の対象としてこの2群の臨床病態的, 組織学的, 遺伝子学的特徴, 予後など生物学的態度の解析が整理され, 特に fusion-negative ARMS と ERMS を同一の risk 群とした臨床研究の進展が期待される. 今後, phenotype, genotype, prognosis を反映した新たな分類が提案されていく方向にある.

Ⅲ 本邦における横紋筋肉腫診断と治療

1. JRSG 中央病理診断委員会登録例の解析

JRSG 中央病理診断委員会には 2010 年 6 月までに 197 例が登録されている. その中で組織型が確定した横紋筋肉腫例は全体の 79% を占める. Embryonal histology は 54% (Botryoid : 8%, Spindle cell : 3%, ERMS NOS : 43%), Alveolar histology は 46% (ARMS NOS & solid : 43%, mixed ARMS & ERMS : 4%), RMS NOS は全体の 3%, Non-RMS は 17% であった. 本邦の登録は IRSG/STS の登録に比較して ARMS NOS & solid が多く, ERMS NOS が少なく, ともに同率であった.

PAX-FKHR キメラ遺伝子は ARMS のみに検出され, ARMS NOS & solid では 84% であった. ARMS における検出率は欧米に一致した. PAX3-FKHR は 66%, PAX7-FKHR が 18% で, PAX-FKHR-fusion negative は 16% であった. 本邦では PAX3-FKHR の頻度がやや高い (COG では 50%) が胞巣型では欧米と同じ一定の頻度で PAX-FKHR キメラ遺伝子が起こることが明らかとなった.

この JRSG-I Study では, ARMS は従来の欧米の報告に比較し増加しているが, PAX-FKHR キメラ遺伝子の検出率は欧米と差異がなく, 増加の要因として ICR 分類の採用, 的確な診断のみではなく, 報告・発見率の増加, ARMS 自然増加

なども考慮する必要があると考えられ, その原因を探ることが大きな課題の一つである.

2. JRSG 中央病理診断委員会における取り組みと課題

中央病理診断委員会では複数の専門病理医による迅速な病理組織診断 (コンセンサス診断), キメラ遺伝子解析 (複数施設), translational research のため検体保存システム (検体センター) の体制が構築されている. 委員会ではコンセンサス病理診断標準化のための評価表に基づく histologic type/category と Risk group assignment を記載した病理診断書の作成・送付, 病理組織像・遺伝子解析結果のデジタル化, データを JRSG 病理学的アーカイブとしての保存 (病理診断委員会事務局, 検体センター) などを行っている. 委員会ではコンセンサス診断の評価のためキメラ遺伝子解析結果を病理診断書に記載・報告しているが, 組織所見と免疫染色所見に基づくコンセンサス病理診断が変更された例はない. JRSG 臨床研究においても IRSG/STSC に匹敵する, 的確なリスク分類, 中央病理診断に基づく治療成績の改善が期待される.

IRSG 中央病理診断の病理医はプロトコル治療の根幹を成す ICR 分類に基づくコンセンサス病理診断の普及に務めてきているが, JRSG 登録例には施設病理診断と中央病理診断の相違 (不一致率約 22%) が認められ, さらにリスク群変更例 (約 12%) の存在は適切なプロトコル治療をする上で無視できない問題である. 臨床医と病理医間, 施設病理医と中央診断病理医間での情報の共有, 意志疎通・統一が重要かつ不可欠で, ICR 分類を基本とした CAP Protocol 分類についても普及したい. JRSG 中央病理診断委員会は各小児固形腫瘍に関わる臨床試験研究, 層別化治療の基盤となる病理診断の軸となる日本病理学会小児腫瘍組織分類委員会中央病理診断委員会と連携し, 各小児期腫瘍の中央病理診断の一層の充実・推進を図りたい. 現在, 分類委員会が小児固形がん臨床試験共同機構と共同で推進してきた小児固形腫瘍観察研究 (中央病理診断に基づく登録と予後調査) が実施段階にある.

3. 病理診断のための検体提出

JRSG 参加施設には HE 標本, 未染標本に加え, PAX-FKHR 遺伝子解析のため OCT コンパウンド包埋, snap freeze した凍結検体の提出を必須とし, さらに可能な限り, ホルマリン固定パラフィン包埋ブロック, 無菌的に採取され培養液中に保存した腫瘍小塊, 風乾後未固定の捺印標本の提出をお願いしている. 詳細は各臨床研究プロトコルを参照いただきたい. 極小検体や挫滅検体ではコンセンサス診断が決定できないこともあり, また, 遺伝子学的背景の検索には凍結検体は不可欠で, 各施設の臨床医, 病理医の先生には中央病理診断の意義に格別なご理解・ご協力を賜りたい.

IV おわりに

小児横紋筋肉腫の形態病理, 分子病理について新たな知見を加え解説した. 今後, phenotype, genotype, prognosis を反映した新たな分類が提案されていくと思われるが, favorable histology 群と unfavorable histology 群をいかに層別化するか困難も予想される. 現状での診断のポイントはコンセンサス病理診断のクライテリアを厳密に守ることにある. 米国の CAP (The College of American Pathologists) に RMS Protocol の新版を注目したい.

本稿は病理と臨床 2008 ; 26(9)「小児固形腫瘍の病理(3) 骨軟部腫瘍・悪性リンパ腫」²²⁾の掲載内容をもとにして文光堂の許諾を得て作成されたものである.

文 献

- 1) Newton WA Jr, et al: Classification of rhabdomyosarcomas and related sarcomas. Pathologic aspects and proposal for a new classification -An Intergroup Rhabdomyosarcoma Study. *Cancer*, 76 : 1073-85, 1995
- 2) Qualman SJ, et al: Intergroup Rhabdomyosarcoma Study: update for pathologists. *Pediatr Dev Pathol*, 1 : 550-611, 1998
- 3) Parham DM, Ellison DA: Rhabdomyosarcomas in adults and children: an update. *Arch Pathol Lab Med*, 130 : 1454-65, 2006

- 4) Parham DM, Barr FG: Embryonal rhabdomyosarcoma, alveolar rhabdomyosarcoma. In Fletcher DM, Unni KK, Mertens F (ed): *WHO Classification Tumours, Pathology and Genetics. Tumors of Soft Tissue and Bone*. IARC Press, Lyon 2002, p146-152
- 5) Qualman S, et al: Prevalence and clinical impact of anaplasia in childhood rhabdomyosarcoma : a report from the Soft Tissue Sarcoma Committee of the Children's Oncology Group. *Cancer*, 113 : 3242-7, 2008
- 6) Kodet R, et al: Rhabdomyosarcomas with intermediate-filament inclusions and features of rhabdoid tumors. Light microscopic and immunohistochemical study. *Am J Surg Pathol*, 15 : 257-67, 1991
- 7) Chiles MC, et al: Soft Tissue Sarcoma Committee of the Children's Oncology Group. Sclerosing rhabdomyosarcomas in children and adolescents: a clinicopathologic review of 13 cases from the Intergroup Rhabdomyosarcoma Study Group and Children's Oncology Group. *Pediatr Dev Pathol*, 17 : 583-94, 2004
- 8) Boman F, et al: Clear cell rhabdomyosarcoma. *Pediatr Pathol Lab Med*, 16 : 951-9, 1996
- 9) Zuppan CW, et al: Lipid-rich rhabdomyosarcoma - a potential source of diagnostic confusion. *Ultrastruct Pathol*, 15 : 353-9, 1991
- 10) 北條洋, 箱崎道之: 小児疾患の病理と病態 小児腫瘍における免疫染色の有用性. *小児外科*, 38 : 567-575, 2006
- 11) Cessna MH, et al: Are myogenin and myoD1 expression specific for rhabdomyosarcoma? A study of 150 cases, with emphasis on spindle cell mimics. *Am J Surg Pathol*, 25 : 1150-7, 2001
- 12) Heerema-McKenney A, et al: Diffuse myogenin expression by immunohistochemistry is an independent marker of poor survival in pediatric rhabdomyosarcoma: a tissue microarray study of 71 primary tumors including correlation with molecular phenotype. *Am J Surg Pathol* 32 : 1513-22, 2008.
- 13) Dias P, et al: Strong immunostaining for myogenin in rhabdomyosarcoma is significantly associated with tumors of the alveolar subclass. *Am J Pathol*, 156 : 399-408, 2000
- 14) Davicioni E, et al: Molecular classification of rhabdomyosarcoma-genotypic and phenotypic determinants of diagnosis: a report from the Children's

- Oncology Group. *Am J Pathol*, 174 : 550-64, 2009
- 15) Barr FG, et al: Genetic heterogeneity in the alveolar rhabdomyosarcoma subset without typical gene fusions. *Cancer Res*, 62 : 4704-10, 2002
 - 16) Wachtel M, et al: Gene expression signatures identify rhabdomyosarcoma subtypes and detect a novel t(2; 2)(q35; p23) translocation fusing PAX3 to NCOA1. *Cancer Res*, 64 : 5539-45, 2004
 - 17) Parham DM, et al: Correlation between histology and PAX/FKHR fusion status in alveolar rhabdomyosarcoma: a report from the Children's Oncology Group. *Am J Surg Pathol*, 31 : 895-901, 2007
 - 18) Barr FG, et al: Examination of gene fusion status in archival samples of alveolar rhabdomyosarcoma entered on the Intergroup Rhabdomyosarcoma Study-III trial: a report from the Children's Oncology Group. *J Mol Diagn*, 8 : 202-8, 2006
 - 19) Davicioni E, et al: Identification of a PAX-FKHR gene expression signature that defines molecular classes and determines the prognosis of alveolar rhabdomyosarcomas. *Cancer Res*, 66 : 6936-46, 2006
 - 20) Williamson D, et al: Fusion gene-negative alveolar rhabdomyosarcoma is clinically and molecularly indistinguishable from embryonal rhabdomyosarcoma. *J Clin Oncol*, 28 : 2151-8, 2010
 - 21) Nishio J, et al: Use of a novel FISH assay on paraffin-embedded tissues as an adjunct to diagnosis of alveolar rhabdomyosarcoma. *Lab Invest*, 86 : 547-56, 2006
 - 22) 北條洋, 他: 小児固形腫瘍の病理(3) 骨軟部腫瘍・悪性リンパ腫. *病理と臨床*, 26:945-959, 2008