

骨軟部腫瘍の病理診断における fluorescence *in situ* hybridization の有用性

杉田真太郎, 長谷川匡

札幌医科大学医学部病理診断学

Diagnostic utility of fluorescence *in situ* hybridization in soft tissue and bone tumors

Shintaro SUGITA MD, PhD, Tadashi HASEGAWA MD, PhD

Department of Surgical Pathology, Sapporo Medical University, School of Medicine

和文要旨

病理診断の基本がヘマトキシリン・エオジン染色標本による形態診断であることに議論の余地はないが、免疫組織化学や fluorescence *in situ* hybridization (FISH) などの補助的診断法の進歩は著しく、形態診断とこれら補助的診断法を適宜組み合わせることで正確かつ効率よく病理診断を遂行することが重要である。FISH の最大の利点は比較的簡便な手技と日常診療で使用されるホルマリン固定・パラフィン包埋切片を用いて解析可能な点であり、いまや多くの病理検査室で導入されている。また、HE 標本で解析部位の形態像が常に確認可能である点から外科病理学領域の研究手法としても大変優れている。骨軟部腫瘍は発生頻度が極めて低く、専門施設に症例が集積される傾向にあるため、一般の病理医にとっては診断に苦慮する領域の一つと考えられる。しかし、FISH により腫瘍に特異的なキメラ遺伝子、遺伝子増幅、遺伝子欠失などを検出することで確定診断に至ることが可能である。また、乳癌の *HER2* 遺伝子増幅、肺癌の *ALK* 遺伝子再構成を検出する FISH のように、骨軟部腫瘍でも今後治療薬選択のために FISH の適応が拡がり、病理診断における FISH の重要性はさらに増すものと予想される。これまで札幌医科大学附属病院病理診断科では FISH を骨軟部腫瘍の病理診断へ応用した数々の研究を行い、得られた成果は直ちに診療現場に還元してきた。本稿では FISH の原理やシグナルパターンの解釈について説明し、当科で行った研究の概要とともに FISH の病理診断への応用とその有用性について解説する。

ABSTRACT

Morphological examination using by hematoxylin and eosin-stained sections is the most fundamental and important method for pathological diagnosis, although ancillary methods including immunohistochemistry and fluorescence *in situ* hybridization (FISH) have remarkably developed in recently. The advantage of FISH is the facility of analysis procedure and the convenience that we are able to perform it using ordinary formalin-fixed and paraffin-embedded specimens in the routine work. So, many clinical laboratory and pathology divisions have introduced FISH and are using it for pathological diagnosis. Soft tissue and bone tumors are generally rare and diagnosis of them may be one of the most difficult fields for pathologists who work in institutes without expertise of these fields. However, FISH can make a confirmative diagnosis of the tumors by detection of specific chimeric genes, gene amplification, and gene deletion. In this article, we explain a principle of FISH and how to interpret the signals, and demonstrate our representative current works of surgical pathology using FISH.

(Accepted December 8, 2014)

Key words: Fluorescence *in situ* hybridization, Dual-color split-signal probe, Dual-color fusion-signal probe, Soft tissue angiofibroma, *CIC-FOXO4* fusion sarcoma

1. はじめに

病理診断の基本はヘマトキシリン・エオジン染色 (HE) 標本を用いた形態観察であり, その重要性に議論の余地はない。熟練した病理医が必要最少限の HE 標本で正確な病理診断を下せば, 診断時間の短縮のみならず, 診断コストの低減にも繋がり経済面でも有益である。一方, 免疫組織化学や fluorescence *in situ* hybridization (FISH) に代表される補助的診断法は近年著しく進歩し, こういった補助的診断法の併用なしには診断困難, あるいは疾患概念や最新の分子病理学的知見の観点から診断が不可能な場合も存在する。よって先達が体系化した形態学的診断を基本に, 日進月歩の補助的診断法を適宜導入し, いかに効率よく病理診断業務を実践できるかが外科病理医に不可欠な技量である。FISH の最大の利点は分子病理学的な補助的診断法でありながら, 日常診療で使用するホルマリン固定・パラフィン包埋切片を用いて一般の病理検査室で解析が可能な点である。また, 免疫組織化学と共通する利点であるが解析部位と HE 標本での形態像 (細胞像) が対比可能である。これまで札幌医科大学附属病院病理診断科では FISH の病理診断への実践的応用をテーマに数々の研究に取り組み, 得られた知見は直ちに診療現場に還元してきた。

本稿ではまず FISH の原理やシグナルパターンの解釈について説明する。次にこれまでに当科で行った研究の概要とともに FISH の病理診断への応用やその有用性について解説する。最後に当科における最新の研究成果について解説する。

2. FISH の原理とシグナルパターンの解釈について

病理診断における FISH は蛍光色素標識した特異的 DNA 配列 (DNA プローブ) を細胞の染色体 DNA とハイブリダイズさせ, 染色体ゲノム DNA の異常を検出する方法である。特に骨軟部腫瘍領域では転座関連肉腫におけるキメラ遺伝子の同定に用いられることが多い。キメラ遺伝子とは異なる染色体上に存在する 2 つの遺伝子とその遺伝子の内部あるいは近傍で切断され, 染色体レベルで融合 (染色体相互転座) した結果生じる新たな遺伝子である。よって転座前の染色体の切断部 (分離プローブ) や転座後の融合部 (融合プローブ) を識別するように蛍光色素標識しプローブをデザインすることでキメラ遺伝子の検出が可能である。また, 目的とする染色体のローカスに特異的なプローブを作製することで遺伝子増幅や染色体特定領域の欠失の有無が検出可能である。さらに多倍体や異数体などの大まかな核型異常についても推測可能である。具体的には赤や緑の蛍光色素で標識されたプローブを組織切片上で細胞核内の核酸とハイブリダイズさせ, 蛍光顕微鏡下でシグナルを観察する。シグナルは赤と緑の 2 色の「点」として認識され, その数や出現パターンを解析することで, 染色体の核型異常や遺伝子増幅の有無を検出することが可能である。

以下に結果の解釈に必要な基本的なシグナルパターンについて解説する。

1) 正常核型 (2 倍体) (図 1a)

正常なヒトの常染色体は 2 対ずつ存在し核型は 2 倍体である。よって常染色体のローカスにハイブリダイズするプローブセットでは赤と緑のシグナルが 2 対認められる。以下の解説は常染色体のローカスを対象としたプローブであることを前提に行う。

2) 分離シグナル (図 1b)

分離シグナルを検出するのが 2 色分離プローブであり, 主に染色体転座によるキメラ遺伝子の検出に用いられる。分離プローブでは染色体の切断部を挟んで赤と緑の蛍光色素で標識する。転座 (切断) がない正常な染色体では赤と緑のシグナルが近接あるいは重なり, 典型的には黄シグナルとして観察される。一方, 転座が生じた染色体では赤と緑のシグナルが広く分離する。このように黄シグナルと分離した赤, 緑シグナルからなるパターンが 2 色分離プローブにおける陽性所見であり, 染色体転座によるキメラ遺伝子の存在が示唆される。

3) 融合シグナル (図 1c)

融合シグナルを検出するのが 2 色融合プローブであり, 分離プローブと同様に染色体転座によるキメラ遺伝子の検出に用いられる。これは染色体転座後の染色体の融合部を挟んで赤と緑の蛍光色素で標識する。したがって, 分離プローブとは異なり, 転座後に染色体融合が生じた場合に黄シグナルが観察される。黄シグナルと分離した赤, 緑シグナル観察され, 陽性シグナルのパターンは分離シグナルのパターンと同様であるが, 分離プローブと融合プローブではプローブデザインが全く異なっている。また, 融合プローブは分離プローブと異なり, 染色体融合を直接検出するため分離プローブよりも特異度が高い一方で感度が低い傾向にある。

4) 遺伝子増幅 (図 1d)

遺伝子増幅の検出を目的とする遺伝子ローカスとコントロールとして遺伝子増幅のないローカスを赤と緑の蛍光色素で標識する。例えば遺伝子ローカスを赤, コントロールローカスを緑で標識し, 目的遺伝子の増幅が存在した場合には 1 個の緑シグナルに対して複数から多数の赤シグナルが観察される。この場合, 赤シグナルの数は遺伝子増幅の程度により様々であり, 赤と緑のシグナル数の比を数値として算出する。この数値がカットオフ値を越えた場合に遺伝子増幅ありと判断される。

5) 染色体欠失 (図 1e)

染色体欠失が生じるローカスとコントロールとして染色体

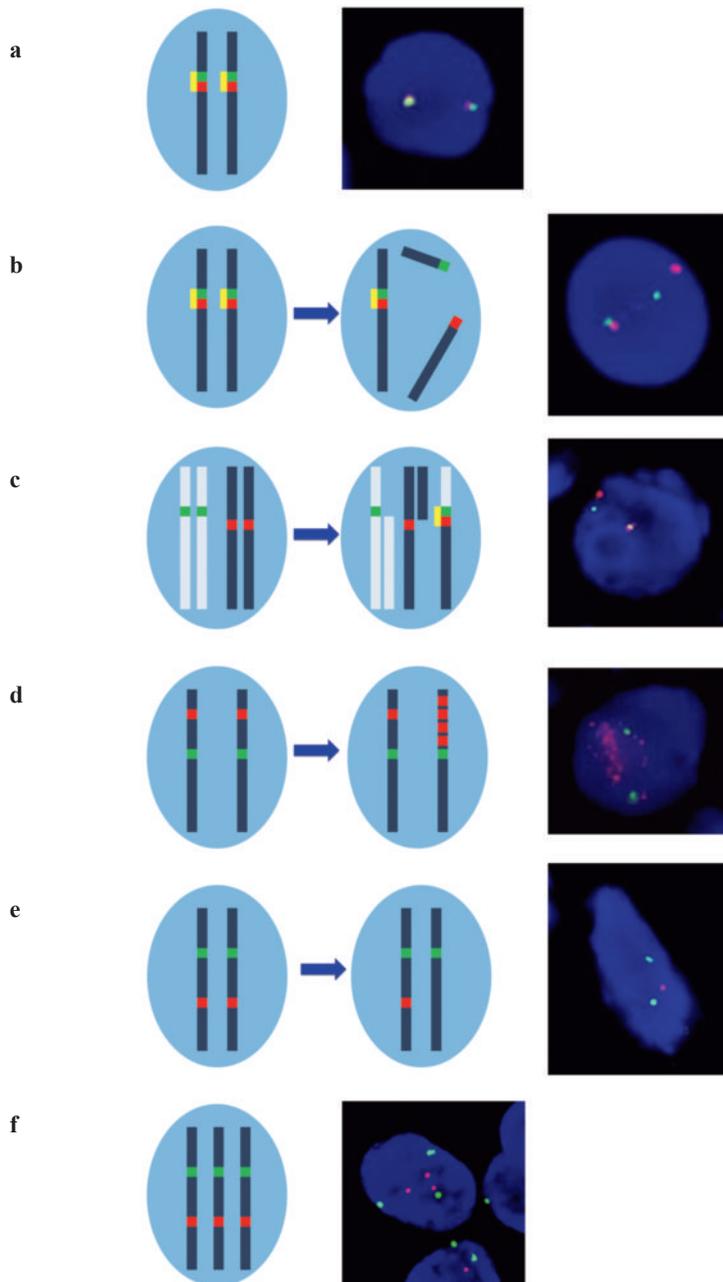


図1 FISH シグナルパターンの模式図と細胞像

- a. 正常核型 (2 倍体)
常染色体のローカスにハイブリダイズするプローブセットでは赤と緑のシグナルが2対認められる。
- b. 分離シグナル
重なった赤、緑シグナル (あるいは黄シグナル) と染色体切断により解離した赤、緑シグナルからなるパターンが見られる。
- c. 融合シグナル
染色体融合による黄シグナルと解離した赤、緑シグナルからなるパターンが見られる。シグナルのパターンは分離シグナルと同様であるが、分離プローブと融合プローブではプローブデザインが全く異なっている。
- d. 遺伝子増幅
コントロール領域を標識した1個の緑シグナルに対して増幅領域を標識した多数 (雲母状) の赤シグナルが観察される。遺伝子増幅が示唆される。
- e. 遺伝子欠失
コントロール領域を標識した2個の緑シグナルに対して欠失領域を標識した赤シグナルが1個観察される。遺伝子欠失により赤シグナルが1個消失する。
- f. 多倍体, 異数体
赤と緑のシグナルが3対見られる。3倍体の核型異常が示唆される。

欠失のないローカスを赤と緑の蛍光色素で標識する。例えば欠失のあるローカスを赤、コントロールローカスを緑で標識し、欠失が存在した場合には1個の赤シグナルに対して2個の緑シグナルが観察される。すなわち、正常の染色体が1対の赤、緑シグナルを示すのに対して、欠失のある染色体では赤シグナルが消失する。

6) 多倍体, 異数体 (図1f)

一般的に腫瘍には様々な核型異常が混在することが多く、2倍体の正常核型のみを示す症例はむしろ少ない。赤と緑のシグナル対が2対より多く見られた場合には多倍体が示唆される。また、遺伝子増幅がなく赤と緑シグナルの個数

が異なる場合には異数体の可能性が考えられる。

7) カットオフ値

結果の評価は一般的に細胞核を50個あるいは100個数えて、目的とするシグナルを示す細胞核の割合をパーセントとして算出する。当科ではカットオフ値として分離シグナル、融合シグナルは20%を採用し、これを超えた場合に陽性と判断している。欠失シグナルのカットオフ値は設定せず、欠失シグナルのパーセントを実測値で報告している。骨軟部腫瘍での遺伝子増幅のカットオフ値 (シグナル比) は赤/緑比で2以上を増幅としている。

実際には上述の様々な核型異常が正常核型も含め混在し

て観察されることが多い。目的とするシグナルパターンのみならず、背景の核型異常などにも注意を払って観察することで陽性判定を行うことは十分可能である。

3. 当科におけるこれまでの研究成果

これまで当科では FISH の病理診断への実践的応用をテーマとした外科病理学的研究に取り組んできた。FISH の手技は比較的簡便でプロトコール化されており、今や多施設の病理検査科で導入されている。また、その普及に伴い多種類の検査用プローブが開発、市販され利用可能である。さらに、独自にカスタムプローブをデザインし利用することも可能である。こういった各種プローブの診断応用を図る際には作製に使用した BAC クローンや蛍光色素の標識領域などのプローブマップ情報を十分に把握し、感度や特異度などの特性も事前に検証しておくことが重要である。我々は様々な骨軟部腫瘍でその病理診断における FISH の有用性を検討しており、以下にいくつかの代表的な研究成果について述べる。

横紋筋肉腫 (rhabdomyosarcoma, RMS) は横紋筋分化を示す悪性軟部腫瘍で主要組織型に胎児型横紋筋肉腫 (embryonal rhabdomyosarcoma, ERMS) と胞巣型横紋筋肉腫 (alveolar rhabdomyosarcoma, ARMS) がある。これらはともに若年者に好発し、小検体での鑑別が時に困難であるが、ARMS ではキメラ遺伝子 *PAX-FKHR/FOXO1* が存在するため、その検出が確定診断に有用である。33 例の RMS (ERMS: 19 例, ARMS: 14 例) を対象にこれまで使用実績の報告がない *FKHR* (13q14) の 2 色分離プローブを用いて診断における有用性を検討した。ERMS の 18 例 (94.7%), ARMS の 13 例 (92.8%) でシグナルの発色が確認され、ARMS の 12 例 (92.3%) で *FKHR* の分離シグナルが検出された¹⁾。また、多くの腫瘍で多倍体などの核型異常を観察することができた。*FKHR* (13q14) プローブは ARMS の診断に適しており、当科の日常診断で使用している。

骨外性粘液性軟骨肉腫 (extraskeletal myxoid chondrosarcoma, EMC) は分化方向の不明瞭な悪性軟部腫瘍で好酸性胞体を示す小円形、短紡錘形の腫瘍細胞が豊富な粘液性基質を背景に索状、レース様に増殖する。形態学的にユーング肉腫/未熟神経外胚葉性腫瘍、脊索腫、筋上皮腫などと鑑別が必要で、EMC に存在するキメラ遺伝子 *EWSRI-NR4A3* の同定が確定診断に有用である。18 例の EMC を対象に市販されている *EWSRI* 分離プローブと独自デザインした *NR4A3* 分離プローブを用いた FISH と、凍結検体を用いた RT-PCR によりキメラ遺伝子 *EWSRI-NR4A3* の同定を試みた。15 例 (83%) の EMC で *EWSRI* (13/18, 72%), *NR4A3* (11/18, 61%) の双方、あるいは一方の分離シグナルが検出された。シグナルの平均陽性率は *EWSRI* で 80%, *NR4A3* で 74% と高値であった。一方、RT-PCR では凍結検体が利用可能であった 11 例でキメラ遺

伝子 *EWSRI-NR4A3*, *TAF15-NR4A3*, *TFG-NR4A3* を同定した²⁾。手技の簡便性も考慮すれば *EWSRI*, *NR4A3* 分離プローブを用いた FISH は EMC の診断に有用と言えた。

以上の研究で使用したプローブは染色体の切断点を挟んで色素標識された一般的な分離プローブである。しかし、陽性シグナルの評価を厳密に行えば同一染色体の比較的狭い範囲を色素標識した融合プローブの設計も可能である。間葉型軟骨肉腫 (mesenchymal chondrosarcoma, MC) は成熟軟骨成分と未熟な小円形細胞成分の 2 相性パターンを示す悪性腫瘍である。腫瘍では染色体 8q21 にある *HEY1* のエキソン 4 から染色体 8q13 にある *NCOA2* のエキソン 13 までの欠失によるキメラ遺伝子 *HEY1-NCOA2* が存在する。*HEY1* と *NCOA2* を蛍光色素標識した 2 色融合プローブを用いて 10 例の MC でキメラ遺伝子 *HEY1-NCOA2* の検討を行った。*HEY1* と *NCOA2* は 10Mb しか離れていないためプローブの設計上、陰性例でもシグナルが近接するが、シグナルが完全に重なった場合のみを陽性と厳密に定義することで融合シグナルの判定を可能とした (図 2)。8 例の MC で各々 20% 以上の融合シグナルが検出され診断に有用と考えられた³⁾。また、シグナル発色が観察されなかった 1 例は脱灰検体を用いており、FISH も免疫染色と同様、脱灰操作が染色性に一定の影響を及ぼすことが示唆された。

腫瘍の確定診断に FISH が寄与するところは大きい。FISH はあくまで補助診断であり、形態診断の整合性を裏付けるものである。よってキメラ遺伝子の存在のみを持って即座に診断してはならない。ときにキメラ遺伝子が本来存在しない腫瘍で非特異的に検出されることがある。多形型脂肪肉腫では粘液性基質が豊富な成分が出現し、粘液型脂肪肉腫に類似した像を示すことがある。粘液型脂肪肉腫はキメラ遺伝子 *FUS-CHOP/DDIT3*、あるいは *EWSRI-CHOP/DDIT3* を有する転座関連肉腫である。一方、多形型脂肪肉腫は多倍体など複雑な核型異常を示す非転座関連肉腫であり、両者は遺伝子学的に全く異なった脂肪肉腫である。9 例の多形型脂肪肉腫を用いた検討では全例において粘液型脂肪肉腫様成分で *CHOP* 分離シグナルを数%であるが検出した⁴⁾。また、様々なプローブを用いた FISH を肉腫、癌腫、悪性リンパ腫を含む 280 腫瘍で行い診断における有用性を検討した結果、非特異的な陽性シグナルが本来はキメラ遺伝子が存在しないはずの癌腫などでも検出された⁵⁾。腫瘍組織型に非特異的な陽性シグナルの陽性率は一般的なカットオフ値と較べて明らかに低い場合が多く、結果の解釈は特に慎重に行うべきであると同時に、まれに非特異的な陽性シグナルが検出される可能性も認識すべきである。

4. 当科における最近の研究成果

骨軟部腫瘍の発がんにおけるキメラ遺伝子の役割は未知のことが多い。しかし、キメラ遺伝子の存在は転座関連肉腫に固有の遺伝子学特徴であり、腫瘍の成り立ちに何らかの重大な影響を与えていると予測される。近年、分子生物

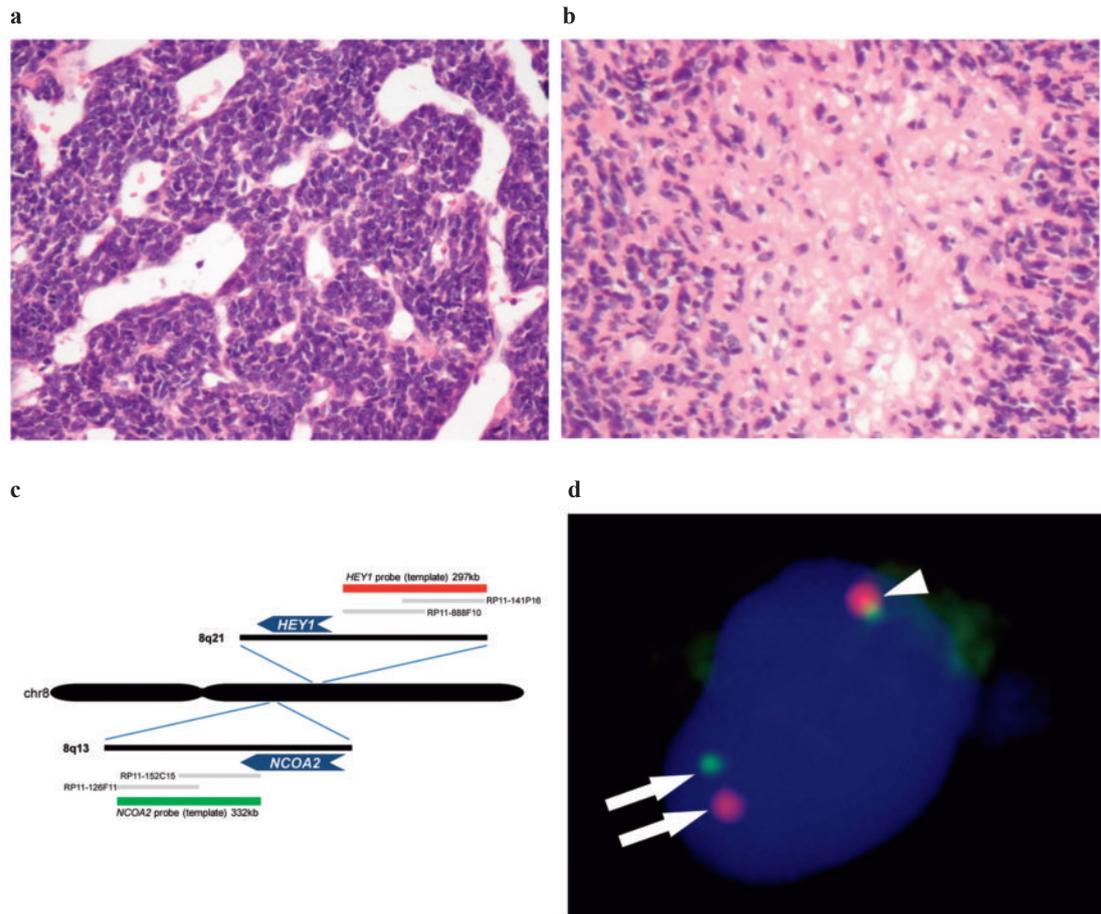


図2 間葉型軟骨肉腫における *HEY1-NCOA2* の融合シグナル

- HE 染色. 腫瘍の小型円形細胞成分では血管周皮腫様血管構築が見られる.
- HE 染色. 腫瘍の軟骨組織様成分では小型円形細胞と移行して硝子軟骨様基質が見られる.
- プローブマップ. 染色体 8q21 の *HEY1* を赤, 染色体 8q13 の *NCOA2* を緑で標識する. この間の欠失によりキメラ遺伝子 *HEY1-NCOA2* が形成される.
- FISH 所見. 融合シグナル (矢頭) と一對の赤, 緑シグナル (矢印) が見られる. 染色体上で *HEY1* と *NCOA2* は近接するが, シグナルが完全に重なった場合のみを陽性と厳密に定義することで融合シグナルの判定が可能である.

学の領域において遺伝子の網羅的解析手法が発展し, 次世代 RNA シーケンスによりキメラ遺伝子の網羅的解析も可能となった. 同定された新規キメラ遺伝子の生物学的機能解析は重要であるが, 機能は未知ながらも遺伝子学的に明らかに独立した腫瘍群を抽出し, 今後の臨床病理学的検討のため症例を蓄積していくことが外科病理学の視点からは特に重要と考える. また, 分子生物学的手法で得られたキメラ遺伝子の核酸配列をもとに FISH 用の DNA プローブを作製すれば, ホルマリン固定・パラフィン包埋検体を使用する日常診断に応用することが可能である. FISH 用のカスタムプローブを作製し, 診断応用を可能とした最近の研究成果について述べる.

軟部血管線維腫 (soft tissue angiofibroma, STA) は近年, Marino-Enriquez らにより新しく概念が確立された良性軟部腫瘍である⁶⁾. 腫瘍は中年女性の下肢深部組織に好発

し, 組織学的には線維芽細胞様の紡錘形腫瘍細胞が繊細な毛細血管網, 豊富な膠原線維性, 粘液性基質, さらにフィブリノイド壊死を示す特徴的な中型血管を伴い増殖する. また, 本腫瘍には染色体転座 $t(5;8)(p15;q13)$ により生じるキメラ遺伝子 *AHRR-NCOA2* が存在し, 遺伝子学的にも独立した腫瘍である⁷⁾. 発生部位や組織像からは鑑別診断として孤立性線維性腫瘍 (solitary fibrous tumor, SFT) や富細胞性血管線維腫 (cellular angiofibroma, CAF) が重要であり, 潜在的に悪性腫瘍である SFT との鑑別が特に重要である. これらの腫瘍ではいずれも紡錘形腫瘍細胞が様々な程度に線維血管性間質を伴って増殖するため, 生検検体での診断確定が困難な場合がある. 一方, SFT にも染色体 12q13 逆位によるキメラ遺伝子 *NAB2-STAT6* が存在し, その結果 STAT6 蛋白の過剰発現が生じるため, 抗 STAT6 抗体の免疫組織化学が診断に有用である⁸⁾. 我々は

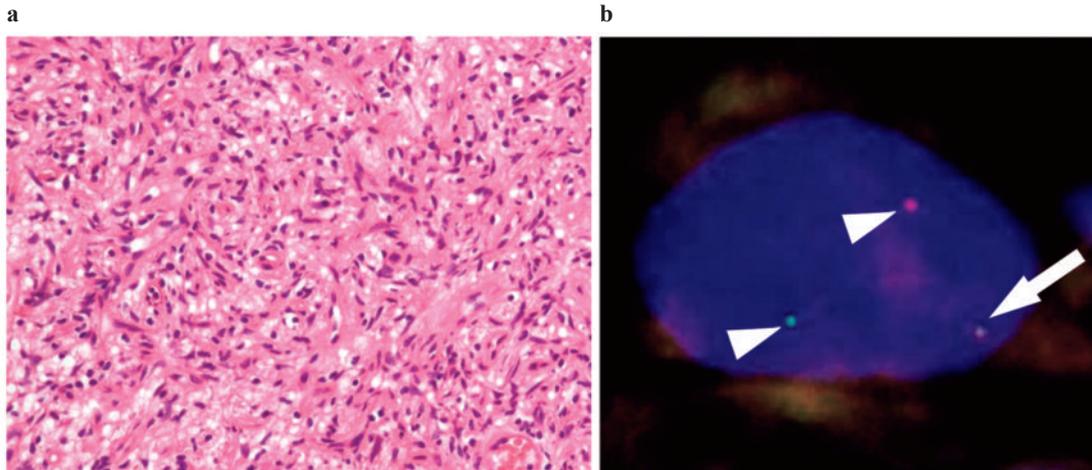


図3 軟部血管線維腫における *NCOA2* 分離シグナル

- HE 染色. 腫瘍では線維芽細胞様の紡錘形細胞が網状の毛細血管増生を伴い束状に増殖する.
- FISH 所見. 赤, 緑からなる分離シグナル (矢頭) と黄シグナル (矢印) が見られる. キメラ遺伝子 *AHRN-NCOA2* の存在が示唆される.

FISH 用に *NCOA2* の 2 色分離プローブを作製し, STA4 例, SFT4 例, CAF3 例, 粘液線維肉腫 3 例, 粘液型脂肪肉腫 3 例, 低悪性度線維粘液肉腫 3 例で *NCOA2* FISH と STAT6 の免疫組織化学を併用し行った結果, 形態が類似する上記腫瘍をより確実に鑑別することが可能であった⁹⁾ (図 3). STA で認められた *NCOA2* 分離シグナルは SFT では認められず, *NCOA2* FISH は良性腫瘍である STA を潜在的悪性腫瘍である SFT から鑑別する点において特に有用と考えられた. なお, 今回作製した *NCOA2* の 2 色分離プローブは当科における FISH のルーチン検査項目に追加し, 日常診療において線維血管性軟部腫瘍の鑑別診断に応用している.

ユーイング肉腫/未熟神経外胚葉性腫瘍 (Ewing sarcoma/primitive neuroectodermal tumor, ES/PNET) は小児, 若年者の長管骨 (大腿骨, 脛骨, 上腕骨) の骨幹部に好発する代表的な骨原発小円形細胞腫瘍である. ES/PNET は染色体転座によるキメラ遺伝子 *EWSRI-EST* を有し, この大部分は染色体転座 $t(11;12)(q24;q12)$ によるキメラ遺伝子 *EWSRI-FLII* である. この他にもキメラ遺伝子 *EWSRI-ERG*, *EWSRI-ETV1*, *EWSRI-ETV4*, *EWSRI-FEV* も少数例で認められ, 近年これらの腫瘍はユーイング肉腫ファミリー腫瘍 (Ewing sarcoma family of tumors, ESFT) と総称される¹⁰⁾. さらに, 典型的な ESFT の形態を示すもキメラ遺伝子 *EWSRI-EST* が存在しない分類不能な小円形細胞腫瘍群が ESFT 様腫瘍として近年報告されており, 次世代 RNA シーケンス等の網羅的遺伝子解析手法により, *EWSRI-EST* とは異なるキメラ遺伝子 *CIC-DUX4*, *BCOR-CCNB3* などの存在が判明してきた^{11,12)}. 今回我々は既知の ESFT とは形態や免疫組織化学的形質が

異なり, G バンド解析にて特異的な染色体転座 $t(X;19)(q13;q13.3)$ を示す小円形細胞腫瘍を経験した. 本腫瘍の凍結組織を用いて RNA シーケンスによりキメラ遺伝子の網羅的探索を行ったところ, 新規キメラ遺伝子 *CIC-FOXO4* を同定した. さらにシーケンスの結果をもとに FISH 用に *CIC* の 2 色分離プローブ, *CIC-FOXO4* の 2 色融合プローブを作製し, FISH でもキメラ遺伝子の存在を確認した (図 4). これまで報告がないキメラ遺伝子 *CIC-FOXO4* を有する新規の ESFT 様腫瘍として *CIC-FOXO4* 肉腫を報告した¹³⁾. 我々の報告の直後に, Solomon らにより 2 例目が報告されたが, *CIC-FOXO4* 肉腫の症例数は非常に少なくその臨床病理学的意義は未だ不明である¹⁴⁾. しかし, 今後その意義を明らかにしていくためにも遺伝子学的に独立した腫瘍を日常診断で正確に診断し, 症例を蓄積していくことが重要と考える.

5. まとめ

一般的に骨軟部腫瘍は発生頻度が極めて低く, 症例も専門施設に集積される傾向にあるため, 専門施設以外で勤務している病理医にとってはなじみが薄く, 診断に苦慮する領域の一つと考えられる. しかし, 特異的なキメラ遺伝子の存在を認識し, 形態診断, 免疫組織化学に FISH を加えることで確定診断に至ることが可能である. FISH は手技的な簡便性からも今後も多くの施設で導入され, 病理診断に積極的に活用されることが予想される. さらに, 乳癌の *HER2* 遺伝子増幅, 肺癌の *ALK* 遺伝子再構成を検出する FISH のように, 骨軟部腫瘍でも治療薬選択のために FISH の適応が広がっていくと思われる. そのためにも, FISH のシグナルパターンの解釈, 偽陽性を含めてカットオフ値の設定に注

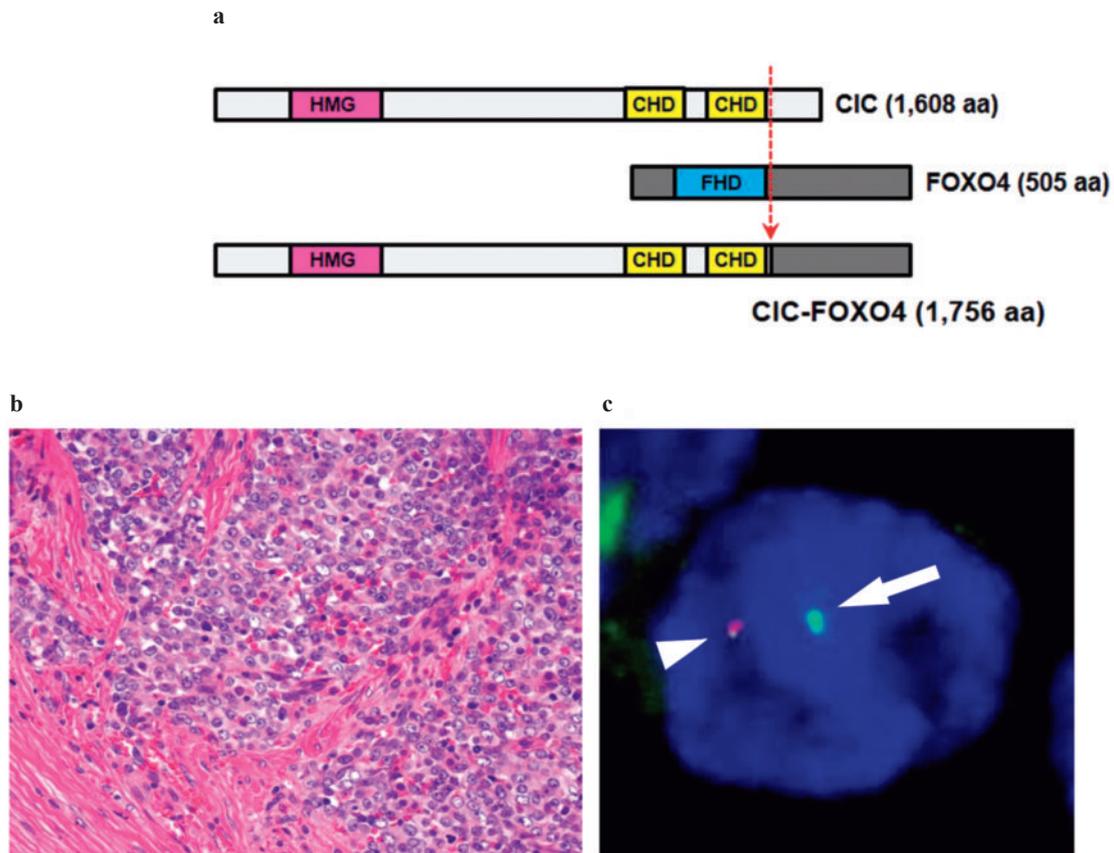


図4 *CIC-FOXO4* 肉腫における *CIC-FOXO4* の融合シグナル

- a. RNA シーケンス結果に基づく *CIC-FOXO4* タンパクの模式図。
 b. HE 染色. クロマチン粗造な小円形腫瘍細胞が豊富な線維性間質を伴い充実に増殖する。
 c. FISH 所見. 融合シグナル (矢頭) と1個の緑シグナル (矢印) が見られる. 染色体 Xq13 の *FOXO4* (赤シグナル) と 19q13 の *CIC* (緑シグナル) からなるキメラ遺伝子 *CIC-FOXO4* が検出される。

意を払う必要がある。

文献

1. Matsumura T, Yamaguchi T, Seki K, Shimoda T, Wada T, Yamashita T, Hasegawa T. Advantage of FISH analysis using FKHR probes for an adjunct to diagnosis of rhabdomyosarcomas. *Virchows Arch* 2008; 452: 251-258.
2. Noguchi H, Mitsunashi T, Seki K, Tochigi N, Tsuji M, Shimoda T, Hasegawa T. Fluorescence in situ hybridization analysis of extraskelatal myxoid chondrosarcomas using EWSR1 and NR4A3 probes. *Hum Pathol* 2010; 41: 336-342.
3. Nakayama R, Miura Y, Ogino J, Susa M, Watanabe I, Horiuchi K, Anazawa U, Toyama Y, Morioka H, Mukai M, Hasegawa T. Detection of HEY1-NCOA2 fusion by fluorescence in-situ hybridization in formalin-fixed paraffin-embedded tissues as a possible diagnostic tool for mesenchymal chondrosarcoma. *Pathol Int* 2012; 62: 823-826.
4. Sugita S, Seki K, Yokozawa K, Tochigi N, Furuta K, Hisaoka M, Hashimoto H, Shimoda T, Hasegawa T. Analysis of CHOP rearrangement in pleomorphic liposarcomas using fluorescence in situ hybridization. *Cancer Sci* 2009; 100: 82-87.
5. Miura Y, Keira Y, Ogino J, Nakanishi K, Noguchi H, Inoue T, Hasegawa T. Detection of specific genetic abnormalities by fluorescence in situ hybridization in soft tissue tumors. *Pathol Int* 2012; 62: 16-27.
6. Mariño-Enríquez A, Fletcher CD. Angiofibroma of soft tissue: clinicopathologic characterization of a distinctive benign fibrovascular neoplasm in a series of 37 cases. *Am J Surg Pathol* 2012; 36: 500-508.
7. Jin Y, Möller E, Nord KH, Mandahl N, Von Steyern FV, Domanski HA, Mariño-Enríquez A, Magnusson L, Nilsson J, Sciort R, Fletcher CD, Debiec-Rychter M, Mertens F. Fusion of the AHRR and NCOA2 genes through a recurrent translocation t(5;8)(p15;q13) in soft tissue angiofibroma results in upregulation of aryl hydrocarbon receptor target genes. *Genes Chromosomes Cancer* 2012; 51: 510-520.
8. Robinson DR, Wu YM, Kalyana-Sundaram S, Cao X,

- Lonigro RJ, Sung YS, Chen CL, Zhang L, Wang R, Su F, Iyer MK, Roychowdhury S, Siddiqui J, Pienta KJ, Kunju LP, Talpaz M, Mosquera JM, Singer S, Schuetze SM, Antonescu CR, Chinnaiyan AM. Identification of recurrent NAB2-STAT6 gene fusions in solitary fibrous tumor by integrative sequencing. *Nat Genet* 2013; 45: 180-185.
9. Sugita S, Aoyama T, Kondo K, Keira Y, Ogino J, Nakanishi K, Kaya M, Emori M, Tsukahara T, Nakajima H, Takagi M, Hasegawa T. Diagnostic utility of NCOA2 fluorescence in situ hybridization and Stat6 immunohistochemistry staining for soft tissue angiofibroma and morphologically similar fibrovascular tumors. *Hum Pathol* 2014; 45: 1588-1596.
 10. Antonescu C. Identification of recurrent NAB2-STAT6 gene fusions in solitary fibrous tumor by integrative sequencing. *Histopathology* 2014; 64: 26-37.
 11. Choi EY, Thomas DG, McHugh JB, Patel RM, Roulston D, Schuetze SM, Chugh R, Biermann JS, Lucas DR. Undifferentiated small round cell sarcoma with t(4;19)(q35;q13.1) CIC-DUX4 fusion: a novel highly aggressive soft tissue tumor with distinctive histopathology. *Am J Surg Pathol* 2013; 37: 1379-1386.
 12. Yoshimoto M, Graham C, Chilton-MacNeill S, Lee E, Shago M, Squire J, Zielenska M, Somers GR. Detailed cytogenetic and array analysis of pediatric primitive sarcomas reveals a recurrent CIC-DUX4 fusion gene event. *Cancer Genet Cytogenet* 2009; 195: 1-11.
 13. Sugita S, Arai Y, Tonooka A, Hama N, Totoki Y, Fujii T, Aoyama T, Asanuma H, Tsukahara T, Kaya M, Shibata T, Hasegawa T. A novel CIC-FOXO4 gene fusion in undifferentiated small round cell sarcoma: a genetically distinct variant of Ewing-like sarcoma. *Am J Surg Pathol* 2014; 38: 1571-1576.
 14. Solomon DA, Brohl AS, Khan J, Miettinen M. Clinicopathologic features of a second patient with Ewing-like sarcoma harboring CIC-FOXO4 gene fusion. *Am J Surg Pathol* 2014; 38: 1724-1745.
-

別刷請求先： 杉田真太郎

〒 060-8543 札幌市中央区南 1 条西 16 丁目

札幌医科大学 医学部 病理診断学

TEL 011-688-9681

FAX 011-615-1418

E-mail : ssugita@sapmed.ac.jp