

ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫЕ МЕЛКОКРУГЛОКЛЕТОЧНЫЕ ОПУХОЛИ СЕМЕЙСТВА САРКОМЫ ЮИНГА: СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О ГИСТОГЕНЕЗЕ, ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКИХ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ МАРКЕРАХ

Д.В. Буланов

Московская городская онкологическая больница № 62

E-mail: patros-ru@yandex.ru

Представлена иммуногистохимическая и молекулярно-биологическая характеристика опухолей семейства саркомы Юинга. Показано, что наряду с дефектами генома, обнаруживаемыми в опухолях, выявлена иммунофенотипическая гетерогенность.

Ключевые слова: опухоли семейства саркомы Юинга, маркеры пролиферации, апоптоз, иммуногистохимические характеристики

MALIGNANT SMALL ROUND CELL TUMORS OF EWING'S SARCOMA FAMILY: MODERN CONCEPTS OF HISTOGENESIS, IMMUNOHISTOCHEMICAL AND MOLECULAR MARKERS

D.V. Bulanov

*State Budgetary Health Institution «The Moscow City Cancer Hospital № 62»
of the Moscow Department of Health, Moscow region, Russian Federation*

Immunohistochemical and molecular biological characterization of Ewing's sarcoma family tumors is proposed. Immunophenotypical heterogeneity is shown to be noted, besides genome defects found in tumours.

Key words: Ewing's sarcoma family tumors, proliferation, apoptosis, immunohistochemical characteristic

Опухоли семейства саркомы Юинга (ОССЮ) относятся к категории крайне сложных в диагностике и лечении злокачественных мелкокруглоклеточных новообразований [1, 3]. Поэтому крайне актуальны новые разработки в оценке биологического поведения этих опухолей, общего прогноза заболевания и выборе индивидуальных схем лечения [6, 12]. Среди семейства ОССЮ J. Ewing в 1921 г. впервые саркома Юинга (СЮ) выделена в самостоятельную нозологическую форму, как наиболее часто выявляемая опухоль. Помимо общепринятого названия, в литературе можно встретить термины: эндотелиальная миелома, диффузная эндотелиома, лимфангиоэндотелиома, круглоклеточная саркома диафиза костей.

Полагают, что ОССЮ нейроэктодермального происхождения; они гистогенетически связаны с клетками нервного гребешка, возникают в скелете и мягких тканях, но рассматриваются как самостоятельная нозологическая форма с особенностями гистологического строения и клинического течения. Убедительным доказательством этого служат

результаты современных иммуногистохимических и молекулярно-генетических исследований ОССЮ [4, 7].

К настоящему времени не удалось выявить потенциальные этиологические факторы возникновения ОССЮ. В то же время есть данные, свидетельствующие о роли наследственного фактора в патогенезе этих заболеваний. В частности, описано одновременное развитие ОССЮ у сиблингов, что подтверждает значение генетических дефектов в этиологии опухоли.

Известно, что первичную СЮ кости чаще диагностируют в возрасте 10–20 лет, пик заболеваемости (57,5%) приходится на 2-е десятилетие жизни — период формирования и созревания скелета. Ежегодная заболеваемость составляет 0,6–2,1 на 1 млн детского населения; отмечено преобладание лиц мужского пола (1,5:1). В 40% случаев первичный очаг располагается в центральных (плоских) костях скелета — костях таза, ребрах, позвоночнике, в 20–30% — в проксимальных отделах конечностей, в 30–40% — в дистальных [2].

Для периферической примитивной нейроэктодермальной опухоли (pPNET) более характерна ретроперитонеальная или интраабдоминальная локализация (20–24%), реже встречается поражение внутренних органов (18–20%). В длинных трубчатых костях, как правило, наблюдают первичное поражение метафиза с распространением на диафиз. У 5–10% пациентов при метафизарной локализации заболевание осложняется патологическим переломом.

Характерной особенностью патогенеза ОССЮ является ранняя непосредственная инвазия окружающих мягких тканей, даже локализованная форма этих злокачественных новообразований включает мягкотканый компонент (IIB или III стадии заболевания). Регионарные лимфатические узлы поражаются в 5–15% наблюдений, как правило, при непосредственном подрастании к ним первичной опухоли. Высокоагрессивный характер ОССЮ проявляется отдаленными метастазами у 20–28% больных во время установления первичного диагноза [8]. Обычно поражены легкие, кости и костный мозг. Отдаленные метастазы могут быть обнаружены в лимфатических узлах средостения и забрюшинного пространства, а также в ЦНС в виде поражения менингеальных оболочек, головного и спинного мозга.

Современные представления о гистогенезе и молекулярно-генетических нарушениях в опухолях семейства саркомы Юинга. Гистогенез рассматриваемых нозологических форм опухолей остается спорным. В последнее время появились предположения о возможном нейроэктодермальном их происхождении [9]. Сегодня исследователи приходят к выводу, что, по всей видимости, опухоли этой группы развиваются из плюрипотентных клеток мезенхимальной ткани, способной дифференцироваться в разных направлениях: 1) развитие из плюрипотентной клетки нейроэктодермальных тканей – таких, как клетки ганглия, феохромоциты, Шванновские, нейроэндокринные клетки, меланоциты; 2) невральная дифференцировка тканей в поперечно-полосатой мускулатуре, пульпе зуба, костях.

Показано, что разнообразные дефекты генома обуславливают клиническую гетерогенность ОССЮ, являются промоторами неконтролируемой клональной пролиферации и значимыми факторами прогноза. Быстрая идентификация этих нарушений осуществляется с помощью флуоресцентной *in situ* гибридизации (FISH), позволяющей выявить амплификацию генов.

Практически 95% клеток ОССЮ имеют характерные изменения хромосом в виде транслокаций [t (11; 22) (q24;q12)] между EWS-геном на хромосоме 22 и *FLII*-геном на хромосоме 11. В свою очередь хромосомные транслокации активируют транскрипцию, приводящую к синтезу химерной РНК и нарушению регулирования роста и дифференци-

ровки клеток. Реже у больных ОССЮ регистрируются цитогенетические аномалии – трисомия хромосом 8 и 12, транслокация между хромосомами 1 и 16, а также делеция короткого плеча хромосомы 1. Частота и клиническая значимость этих поврежденных генетического аппарата требуют дальнейшего углубленного изучения.

Результаты ряда молекулярно-генетических исследований позволяют предположить, что одним из ключевых факторов blastomagenеза является повреждение гена, кодирующего синтез белка-супрессора рецептора TGF α [6, 10].

Проведенные исследования показали, что опухоль Аскина, pPNET, эстезионейробластома биологически схожи с ОССЮ по цитогенетическим, биохимическим и онкогенетическим свойствам [9, 10]. Дальнейшие исследования позволили выявить дополнительные особенности ОССЮ, заключающиеся в том, что опухолевые клетки экспрессируют маркеры нейроэктодермальной и мезенхимальной дифференцировки.

Иммуногистохимическая и молекулярно-биологическая характеристика ОССЮ. Внедрение новых диагностических методов делает возможной дифференциальную диагностику ОССЮ с другими мелкокруглоклеточными саркомами (рабдомиосаркомой, нейробластомой, круглоклеточной липосаркомой, синовиальной саркомой, мезенхимальной хондросаркомой). Так, иммуногистохимическое исследование клеток сарком с нейроэктодермальным гистогенезом продемонстрировало наличие в них виментина – белка, который содержится во всех мезенхимальных клетках [14]. Клетки содержат десмин (Des) – промежуточную нить скелетных мышц (Z-зона), миокарда и компактных гранул гладкой мускулатуры; мышечно-специфический актин – сократительные белки класса α поперечно-полосатой, гладкой мускулатуры, миокарда и класса γ гладкой мускулатуры. Маркеры невральная дифференцировка представлены нейронспецифической энолазой (NSE), хромогранином А (мембранный белок семейства кислых гликопротеинов, локализующийся в растворенной фракции нейросекреторных гранул), синаптофизин, содержащим пресинаптических везикул нервных клеток, Leu7 (CD57) – антигенным маркером естественных киллеров, S-100-протеином, участвующим в регуляции ионного обмена клеток нервной ткани; в некоторых случаях определяется белок нейрофиламента (NFTP).

В саркомах с нейроэктодермальным гистогенезом маркеры эпителиальной дифференцировки, как правило, экспрессированы слабо. При этом возможно обнаружение, например, эпителиального мембранного антигена (EMA), панцитокератина. В этих опухолях значительно чаще определяют глиальный фибриллярный кислый белок (GFAP), белок E-26,

входящий в состав коллагеновых волокон и внеклеточных компонентов матрицы кости [13].

Наиболее полное иммуногистохимическое исследование клеток опухолей нейроэктодермального гистогенеза проведено А. Cavazzana и соавт.; ими установлено, что NSE положительна в 95% случаев, микроглобулин – в 77%, синаптофизин – в 73%, белок S-100 – в 67%. Белок CD99 определяется в преобладающем большинстве случаев [5].

В клетках ОССЮ обнаружены иммуногистохимические маркеры: N-Glycolyl GM3 Ganglioside, семейство белков Connexins, IGF, Caveolin, CD133, анализ экспрессии которых позволяет выделить более агрессивные по течению и прогнозу опухоли и назначить эффективную таргетную химиотерапию [9].

В последнее время выделен ген *MIC 2*, локализованный на коротком плече половых хромосом и связанный с активацией IGF, последний действует как мощный аутокринный стимулятор клеточного роста и играет важную роль в патогенезе роста опухоли [12]. Наибольший интерес представляет продукт гена *MIC 2* – p30/32(CD99), изначально выделенный при исследовании клеток Т-клеточного лимфобластного лейкоза. Иммуногистохимические исследования клеток сарком нейроэктодермального гистогенеза показали очень высокую чувствительность теста, выявляющего CD99 (экспрессия белка обнаружена в 95% случаев), что можно использовать в практике для иммуногистохимической диагностики данного типа новообразований.

Таким образом, согласно данным ряда научных исследований, СЮ, рPNET, эстеziонейробластома и опухоль Аскина наиболее вероятно развиваются из плюрипотентной клетки, способной к дифференцировке в различных направлениях. Это подтверждают и экспериментальные исследования по невральнoй и мезенхимальной дифференцировке клеток *in vitro*. D. Schmidt и D. Harms (1990) продемонстрировано, что присутствие невральных маркеров у больных СЮ является неблагоприятным прогностическим фактором [11].

Цитогенетические и молекулярно-биологические исследования позволили типировать ген саркомы Юинга (*EWS*), который располагается на хромосоме 22 и состоит из 6 интронов. Цитогенетически СЮ характеризуется обратной транслокацией t(11;22)(q24;q12).

Ген *FLII* локализован на хромосоме 11, объединяется с геном *EWS* хромосомы 22, в результате транслокации появляется общий ген *FLII/EWS*. Данный вид транслокации встречается в 85% случаев при СЮ. Клонирование последовательностей ДНК позволило идентифицировать химерный ген СЮ, полученный при обратной транслокации t(11;22)(q24;q12). Аминоокончание гена *EWS* 22 хромосомы плеча q12 – 5 область *EWS* гена – соединяется с карбоксильным окончанием 11 хромо-

сомы плеча q24, представленным геном *FLII* – 3-й областью *FLII* или *ERG21* хромосомы. Транслокация изменяет считывание информации с гена *EWS* при соединении с геном *FLII* хромосомы 11, что способствует дисфункции транскрипции ДНК и ведет к онкогенезу. Нарушение последовательностей олигонуклеотидов, возникающих при данной транслокации, приводит к гибели опухолевых клеток, что в настоящее время рассматривается как возможный потенциал в разработке лекарственных лечения СЮ.

Помимо транслокации t(11;22), при СЮ встречаются альтернативные варианты – транслокация между 21 и 22 хромосомами t(21;22), эта патология встречается значительно реже (приблизительно в 10% случаев). Ген *ERG* хромосомы 21 присоединяется к гену *EWS* хромосомы 22. Ген *ERG* принадлежит к семейству ETS-факторов транскрипции. Недавно выделен еще один вид транслокации – t(7;22)(p22;q12), который описан при СЮ. В результате этой обратной транслокации ген *EWS* соединяется с геном *ETV1*, который локализуется в 22 локусе длинного плеча 7 хромосомы. Кроме того, в клетках СЮ обнаружены другие цитогенетические нарушения: t(1;16); der(16)t(1;16) с частичной трисомией 1q; der(16)t(1;16)(q21;q13); трисомия 8 хромосомы.

Исследование пloidии хромосом при СЮ дало противоречивые результаты. Достоверно доказано, что анеуплоидный набор хромосом ухудшает прогноз, а тетраплоидия, которая часто встречается при данной патологии, не является значимым фактором прогноза.

Конъюгация гена *EWS* с другими генами может способствовать возникновению различных вариантов злокачественных новообразований, например, десмопластической круглоклеточной опухоли, при которой выявляется t(11;22)-транслокация между геном *EWS* хромосомы 22 и геном *WT1* на хромосоме 11.

Исследования цитогенетических аномалий в злокачественных опухолях мягких тканей показали, что рPNET, эстеziонейробластома и опухоль Аскина имеют схожие с СЮ цитогенетические нарушения.

Цитогенетически для рPNET характерны транслокации t(11;22)(q24;q12); t(21;22)(q22;q12). В некоторых случаях при опухоли Аскина отмечено удвоение мутантной хромосомы, имеющей t(11;22). Клетки эстеziонейробластомы характеризуются аномалиями кариотипа, аналогичным таковым, выявленным в клетках СЮ – t(11;22)(q24;q12).

Таким образом, при СЮ, эстеziонейробластома и рPNET выявлены идентичные онкогенетические, цитогенетические, иммуногистохимические признаки, что позволило объединить эти новообразования в единую группу – опухоли с нейроэктодермальным гистогенезом. Цитогенетические и иммуногистохимические методы помогают про-

вести дифференциальную диагностику с другими опухолевыми заболеваниями, при светооптической микроскопии которых могут возникнуть диагностические трудности.

Безусловно, выбор стратегии лечения, с практической точки зрения, определяется клинической группой больного, которая по существу обозначает стадию заболевания. Клинические группы формируют с учетом факторов прогноза, выявленных у пациентов. Поскольку ранее СЮ, рPNET, эстезио-нейробластома и опухоль Аскина рассматривали как гетерогенные заболевания, единых факторов прогноза для всей совокупности больных с опухолями нейроэктодермального гистогенеза в настоящее время не разработано.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Анализ современной литературы свидетельствует о том, что ОССЮ остаются одним из сложных разделов патологии, и несмотря на значительный прогресс знаний в области костной онкологии, до настоящего времени этот вопрос остается нерешенным, особенно это касается диагностики мелко-

круглоклеточных опухолей костей и мягких тканей. Вместе с тем доказано, что ОССЮ включают ряд нозологических форм, ранее считавшихся гетерогенными (СЮ, рPNET, опухоль Аскина). Указанные новообразования – нейроэктодермального гистогенеза; поражение, как правило, носит первично-диссеминированный характер. Неопределенность в вопросах номенклатуры и классификации данных сарком служит основанием для их выделения в современной морфологической литературе в самостоятельную проблему. Вместе с тем эта проблема имеет весьма существенное практическое значение при дифференциальной диагностике в ряду формально похожих злокачественных опухолей. В последние годы все чаще предпринимаются попытки установить прогностическую значимость различных цитогенетических маркеров для данного вида опухолей. Кроме того, анализ морфологических факторов прогноза служит материалом для дальнейших исследований и большинству специалистов представляется правильной стратегией лечения, что позволяет надеяться на достижение значимых результатов в терапии больных с данной патологией.

ЛИТЕРАТУРА

1. Киселев Л.П. Молекулярная диагностика и интенсификация химиотерапии прогностически неблагоприятных форм саркомы Юинга у детей. – Автореф. дисс. ... канд. мед. наук. – Минск, 2007. – 21 с.
2. Леенман Е.Е., Кочурова Н.В., Белогурова М.Б. и др. Иммуногистохимическое исследование мелкокруглоклеточных сарком и факторов (NM23, 044), прогнозирующих метастазирование у детей // *Вопр. онкол.* – 2003; 49 (2): 21–5.
3. Arvand A., Denny C. Biology of EWS. ETS fusions in Ewing's family tumors // *Oncogene.* – 2001; 20: 5747–54.
4. Balamuth N., Womer R. Ewing's sarcoma // *The Lancet Oncology.* – 2010; 11 (2): 184–92.
5. Cavazzana A., Ninfo V., Roberts J. et al. Peripheral neuroepithelioma: a light microscopic, immunocytochemical, and ultrastructural study // *Mod. Pathol.* – 1992; 5: 71–8.
6. Erkizan H., Uversky V., Toretsky J. Oncogenic partnerships: EWS-FLI1 protein interactions initiate key pathways of Ewing's sarcoma // *Clin. Cancer Res.* – 2010; 16 (16): 4077–83.
7. Hunold A., Weddeling N., Paulussen M. et al. Topotecan and cyclophosphamide in patients with refractory or relapsed Ewing tumors // *Pediatric Blood and Cancer.* – 2006; 47 (6): 795–800.
8. Ladenstein R., Potschger U., Le Deley M. Primary disseminated multifocal Ewing sarcoma: results of the Euro EWING 99 trial // *J. Clin. Oncol.* – 2010; 28 (20): 3284–91.
9. Li Y., Tanaka K., Fan X. Inhibition of the transcriptional function of p53 by EWS-Flil1 chimeric protein in Ewing family tumors // *Cancer Lett.* – 2010; 294 (1): 57–65.
10. Picarda G., Lamoureux F., Geffroy L. Preclinical evidence that use of TRAIL in Ewing's sarcoma and osteosarcoma therapy inhibits tumor growth, prevents osteolysis, and increases animal survival // *Clin. Cancer Res.* – 2010; 16 (8): 2363–74.
11. Schmidt D., Harms D. The applicability of immunohistochemistry in the diagnosis and differential diagnosis of malignant soft tissue tumors // *Klin. Paediatr.* – 1990; 202: 224–9.
12. Scotlandi K., Manara M., Haffinger C. Prognostic and therapeutic relevance of HER2 expression in osteosarcoma and Ewing's sarcoma // *Eur. J. Cancer.* – 2005; 41 (9): 1349–61.
13. Sohn E., Li H., Reidy K. et al. EWS/FLI1 oncogene activates caspase 3 transcription and triggers apoptosis in vivo // *Cancer Res.* – 2010; 70 (3): 1154–63.
14. Wang Y., Mandal D., Wang S. Platelet-derived growth factor receptor β inhibition increases tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) sensitivity; imatinib and TRAIL dual therapy // *Cancer.* – 2010; 116 (16): 3892–902.