

肺原発 Primitive Neuroectodermal Tumor (PNET) の1例

平松美也子^{1,4}・奥村 栄¹・大柳文義²・
西尾誠人²・石川雄一³・中川 健¹

要旨 — **背景.** PNET と Ewing 肉腫 (ES) はかつて別の疾患として論じられていたが、現在では同一の疾患と理解されており、特異的な染色体転座と融合遺伝子の証明がこの疾患の確定診断において非常に重要である。この腫瘍は比較的若年者の骨軟部に発生する悪性度の高い肉腫で、1980年代以降行われた多くの臨床試験の結果、強力な化学療法と局所治療の組み合わせが予後の改善に不可欠であることが知られている。しかし、肺原発の PNET は非常に稀で報告数も少なく、他の肺内腫瘍との鑑別が重要である。**症例.** 31歳男性。検診胸部単純 X 線写真にて右肺門の腫瘤影を認め、前医受診し精査したところ肺原発 PNET が疑われ当院を紹介受診。CT ガイド下経皮針生検の病理組織学的検査にて PNET と診断。染色体検査・遺伝子検査にて相互転座 t(11;22)(q24;q12)、融合遺伝子 EWS-FLI 1 (Exon 7/Exon 5) を検出。全身検索にて肺外病変認めず、肺原発 PNET として術前化学療法施行後、右上葉切除術を施行。その後全 47 週にわたる化学療法を完遂し、現在術後 12 ヶ月無再発生存中である。(肺癌. 2006;46:33-39)

索引用語 — PNET, Ewing 肉腫, 染色体転座, 融合遺伝子, 肺

A Case of Primary Pulmonary Primitive Neuroectodermal Tumor (PNET)

Miyako Hiramatsu^{1,4}; Sakae Okumura¹; Fumiyoshi Ohyanagi²;
Makoto Nishio²; Yuichi Ishikawa³; Ken Nakagawa¹

ABSTRACT — **Background.** Primitive neuroectodermal tumor (PNET) and Ewing's sarcoma are relatively aggressive malignant tumors of bone and soft tissue. Their typical chromosomal translocation and chimeric protein, as a result of gene fusion, have proved their similarity and now they are thought to be identical. Since the 1980, many protocol studies have been carried out and accumulated data have demonstrated that intensive chemotherapy combined with local control is crucial to improve survival. Since primary pulmonary PNET is very rare and there are only a few cases reported in detail, there is no standard therapy for this disease and the prognosis is also unknown. **Case.** A 31-year old Japanese man presenting a mass adjacent to the right hilum of lung on an annual chest X-ray check up was admitted to our hospital. CT-guided needle biopsy demonstrated small, round cell proliferation and both MIC2 and PAS staining were positive, resulting in a diagnosis of PNET. Chromosomal translocation (t(11;22)(q24;q12)) together with fusion gene (EWS-FLI 1 Exon 7/Exon 5) confirmed the diagnosis. After 3 courses of chemotherapy, we performed right upper lobectomy and he recently finished an adjuvant chemotherapy course that extended over 47 weeks. (*JJLC*. 2006;46:33-39)

KEY WORDS — Primitive neuroectodermal tumor, Ewing's sarcoma, Chromosomal translocation, Transfusion gene, Lung

(財) 癌研究会有明病院呼吸器センター ¹呼吸器外科, ²呼吸器内科; ³(財) 癌研究会有明癌研究所病理部; ⁴東京慈恵会医科大学外科学講座。

別刷請求先: 平松美也子, (財) 癌研究会有明病院呼吸器センター呼吸器外科, 〒135-8550 東京都江東区有明 3-10-6。

¹Thoracic Center, Surgical Oncology, ²Medical Oncology, Cancer Institute Ariake Hospital, Japan; ³Department of Pathology, Can-

cer Institute, Japan; ⁴Department of Surgery, Tokyo Jikei University, Japan.

Reprints: Miyako Hiramatsu, Thoracic Center, Surgical Oncology, Cancer Institute Hospital, 4-1-11-505 Hiro-o, Shibuya-ku, Tokyo 135-8550, Japan.

Received June 8, 2005; accepted October 31, 2005.

© 2006 The Japan Lung Cancer Society

はじめに

Primitive neuroectodermal tumor (PNET)/Ewing 肉腫 (ES) は、若年者を中心として骨軟部に発生する小円形細胞性の悪性度の高い腫瘍である。近年の遺伝子学的研究によりひとつにまとめられた疾患であり、その診断に際しては特異的な染色体転座や融合遺伝子を確認することが重要である。また、現在も欧米を中心に治療法の臨床試験が盛んに行われている疾患であり、化学療法を主体とした集学的治療が予後改善のために必要とされている。

しかし肺原発 PNET は非常に稀で、治療後の経過観察を含めた報告例は本例を含めて 8 例と少なく、その予後や標準的治療はいまだ明らかでない。今回我々は肺原発 PNET の集学的治療例を経験したので文献的な考察を加え報告する。

症 例

症例：31 歳，男性。

主訴：検診にて胸部 X 線写真に異常を指摘される。

家族歴：妹 卵巣癌。

既往歴：特記すべきことなし。

現病歴：検診の胸部単純 X 線写真にて右肺門に接する腫瘤影を指摘された。前医での検査にて肺原発 PNET を疑われ、精査加療目的で当院を受診した。

入院時現症：特記すべき異常なし。

入院時一般検査所見：血液（各種腫瘍マーカーを含む）、尿検査ともに異常なし。肺機能検査異常なし。

入院時胸部単純 X 線写真では右肺門の頭側に径約 4 cm の腫瘤影を認めた。CT では右 S³ に最大径 53 mm の extrapleural sign 陰性の境界明瞭な腫瘤影を認め、内部は不均一な造影効果を示した。また、前縦隔に粗造な濃度上昇部分を認めた (Figure 1A, 1B, 1C)。その他に頭部 MRI、腹部 CT、骨シンチ、ガリウムシンチを施行したが、右 S³ 病変以外に特記すべき異常を認めなかった。

CT ガイド下経皮針生検を行い、その結果 HE 染色では小型円形細胞の充実性増殖を認め、PAS 染色では腫瘍細胞は PAS 陽性顆粒を持ち、MIC2 抗体 (Dako Corporation, Carpinteria, Calif, 1:600) を用いた免疫染色では細胞質に陽性であった (Figure 2A, 2B, 2C)。

染色体異常検査法と結果：培養期間 4 日間で Q-バンドニング分染法にて行った。分析の結果、11 番染色体と 22 番染色体の長腕に転座 t(11;22)(q24;q12) を認めた (Figure 3A, 3B)。

キメラ遺伝子転写産物の検出法と結果：生検時の新鮮材料より抽出した (RNAzol 法：Tel Test, Friendswood, TX) total RNA 1 μg と random hexamers, Super-

script II reverse transcriptase (Life Technologies, Rockville, MD) を用いて cDNA を作製した。この cDNA の 1/20 量に、2.5 U の Taq DNA polymerase (Promega) と Perkin Elmer Thermal Cycler (Perkin Elmer, Norwalk, CT) を用い、94°C、30 秒間、60°C、1 分間、72°C、1 分間にて 35 cycle の PCR を行った。プライマーには EWS52 (5'-cagcagaacacctatgggcaac-3') と FLI1-31 (5'-tttgaactccccgttggtcc-3') を用いた。PCR 産物を 1% agarose gel で電気泳動施行したところ、507bp キメラ転写産物を確認した (Figure 4A)。また、この PCR 産物を pGEM-T plasmid (Promega) にサブクローニングし、sequence 解析にて EWS 遺伝子と FLI1 遺伝子の Exon 7/5 間の in-frame fusion であることが確認された (Figure 4B)。

入院後経過：肺原発 PNET, cT2N0M0 相当として Children's Oncology Group (COG) のプロトコールスタディに基づいて術前化学療法を施行した。¹ 内容は vincristine (VCR), doxorubicin/adriamycin → actinomycin-D (DXR/ADR→Ac), cyclophosphamide (CPA) の VAC 療法に IE を加えての交代療法であり、現在初診時遠隔転移のない PNET に対する標準治療とされている。まずこの VAC 療法を 3 サイクル施行したところ腫瘍縮小率は 46% で PR となった。同時に前述した前縦隔の濃度上昇部分も縮小率 50% を示した。COG のスタディでは局所治療が治療開始より 12 週目に設定されていたのでこれに従い右上葉切除術を予定した。前縦隔の粗造な濃度上昇部分に関しては画像上胸腺過形成を強く疑っていた。しかし、PNET との関連が不明確で確定診断が必要と判断し、胸骨縦切開下にて右上葉切除及び胸腺全摘を行った。

手術所見：右上縦隔に接する腫瘍部の臓側胸膜面が白色を呈し、硬度を増していた。接していた縦隔胸膜には異常を認めなかった。その他胸腔内の異常は認めず、明らかに腫大しているリンパ節もなかった。リンパ節郭清に関しては、肉腫の術後再発様式は血行性転移と局所再発が主体であり、その意義は少ないと考え肺門リンパ節のサンプリングに留めた。全摘した胸腺内には結節性病変を認めず、成人胸腺としてはびまん性にやや肥厚していた。

腫瘍断面：化学療法の影響と思われるが、腫瘍内は癬痕化・空洞化し、充実性部分に xanthoma 様の黄色調の部分も認めた。また、辺縁は線維性の被膜で覆われ、周囲との境界は明瞭であった。

腫瘍組織像 (ルーペ像 Figure 5A, 強拡大像 Figure 5B)：腫瘍内には viable な腫瘍細胞が約 2 割残存しており、治療効果は Ef2 と判定した。生検組織と同様小型円形細胞が充実性に増殖しており、一部は Homer-Wright

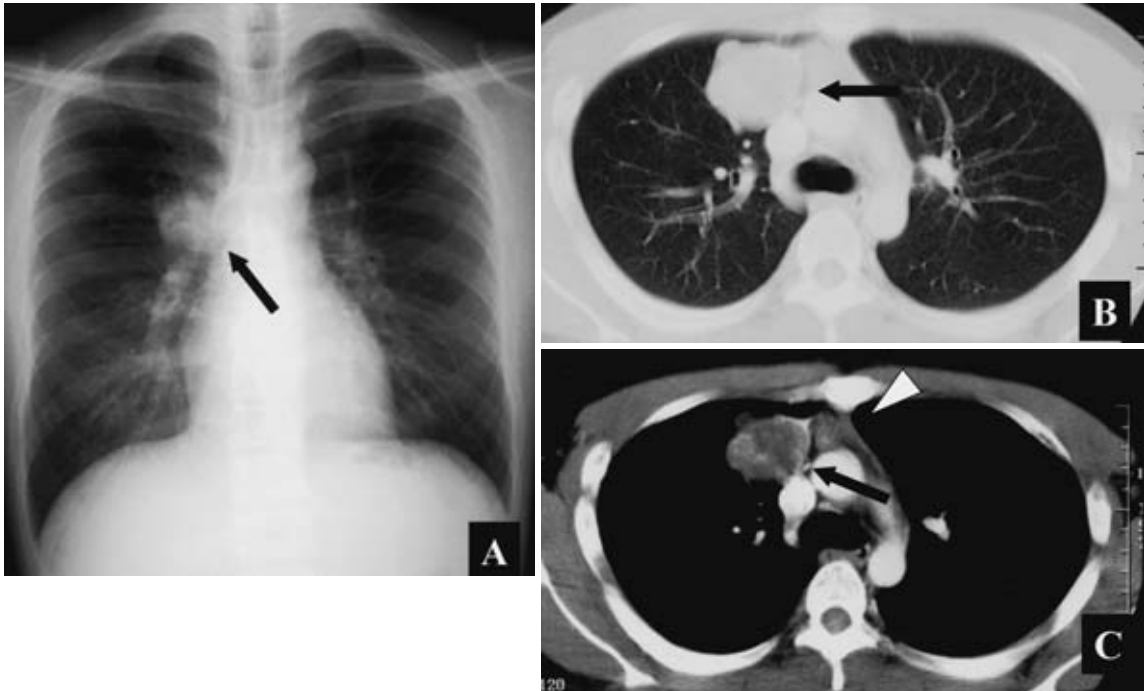


Figure 1. A. Chest radiography on admission showing a mass (arrow) adjacent to the right mediastinum. B&C. Chest computed tomography showing a well-defined, heterogeneously enhanced mass measuring 53 mm in the right S³. Extrapleural sign is negative (arrow). An irregular soft tissue density is also noted in the anterior mediastinum (arrow head).

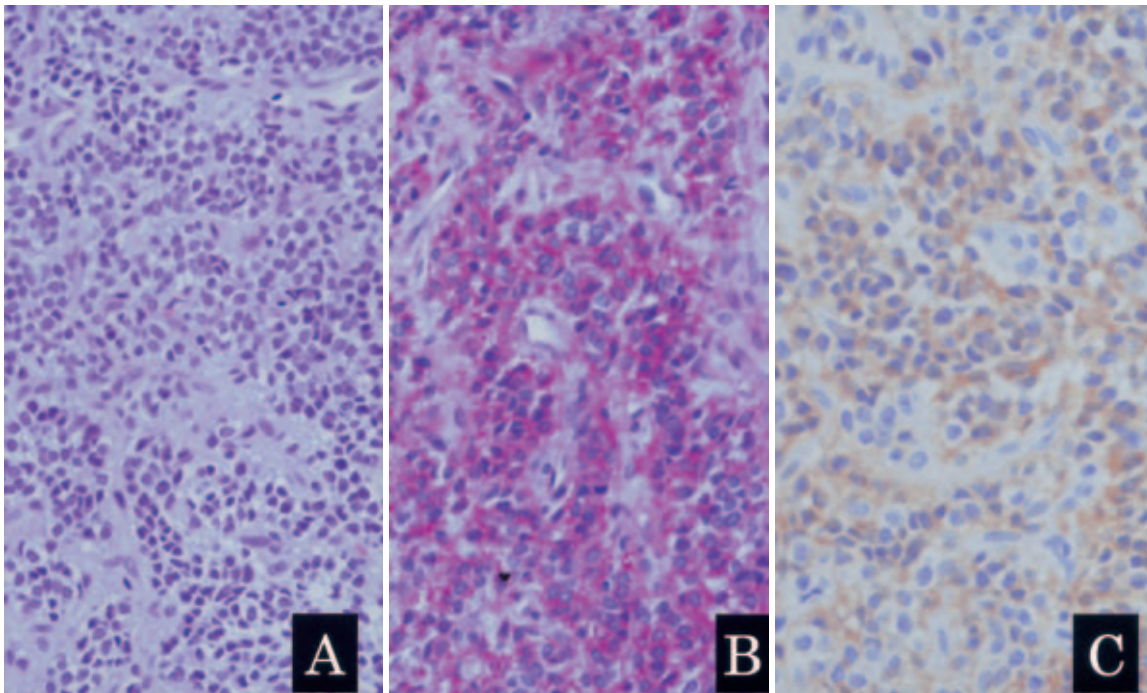


Figure 2. CT guided lung needle biopsy. A. HE staining. B. PAS staining C. MIC2 immunohistochemical staining. Small round cell proliferation. Note the PAS positive granules and MIC2 positive cell membrane of the tumor cells.

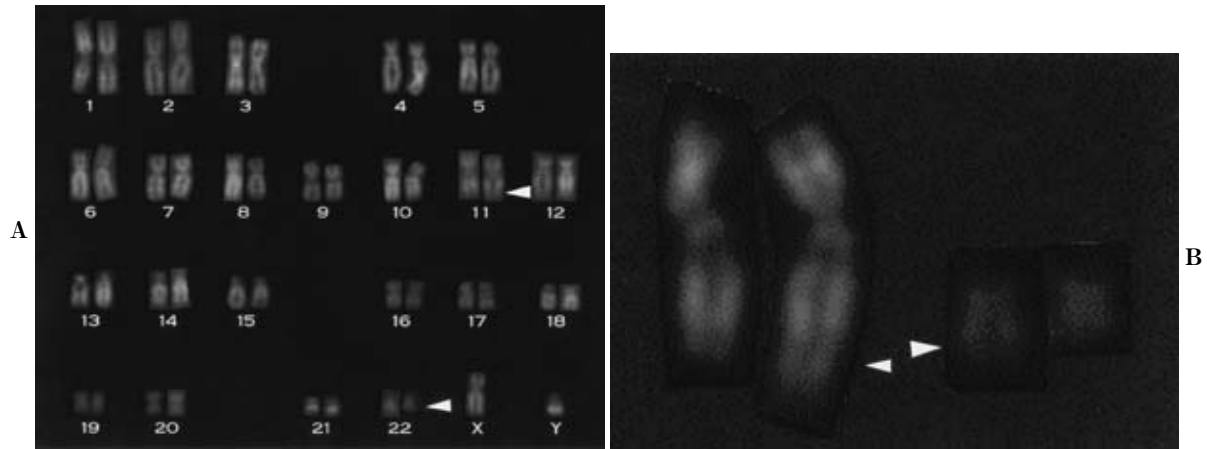


Figure 3. Karyotype showing the most common rearrangement, a translocation (11;22)(q24;q12) (arrows).

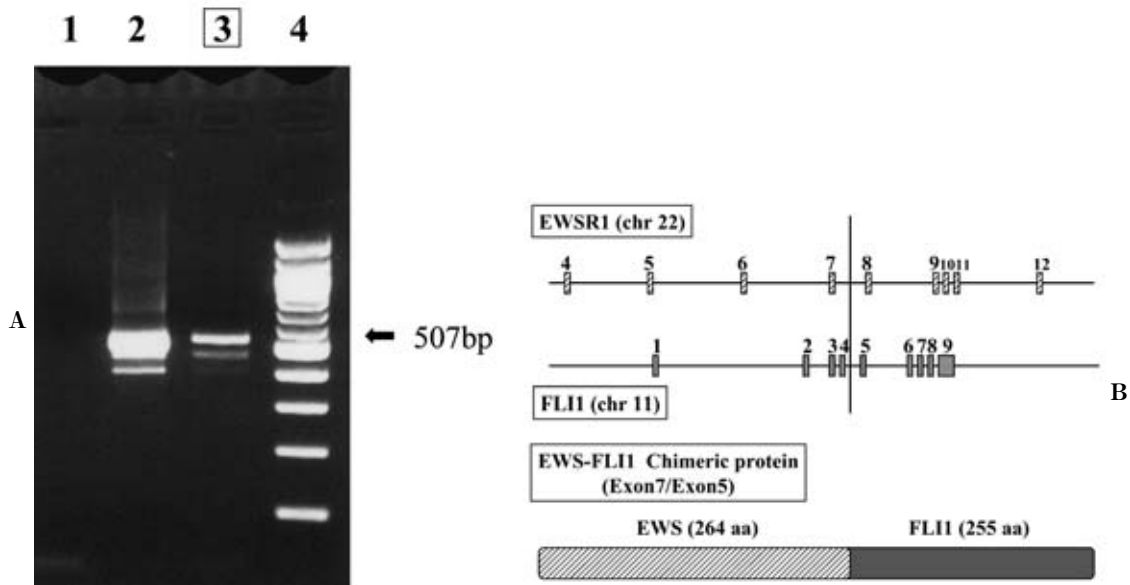


Figure 4. A. Reverse transcriptase-polymerase chain reaction (RT-PCR) analysis of pulmonary PNET. A 507 base pair (bp) product is detected (lane 3), corresponding to fusion transcripts of EWS-FLI 1 gene (lane 1: negative control, lane 2: Ewing cell line, lane 3: current case, lane 4: Size marker). B. Schematic diagram of EWS-FLI 1 gene fusion resulting from t(11;22). Individual gene exons are depicted as numbered boxes and the region where chromosomal breakpoints occur is depicted.

型 rosette 様の配列を示していた。前縦隔脂肪織内には胸腺過形成を認めた。

考 察

PNET は 1918 年、Stout らによって 42 歳男性の尺骨神経に発生した未分化小円形悪性細胞性肉腫としてはじめて発表された。² 続いて Ewing が 1921 年に 14 歳女性の前腕に発生した円形細胞性腫瘍を発表した。³ また、1975 年に Angervall らが骨外性 Ewing 肉腫⁴ を、1979 年には Askin らが胸壁、縦隔に発生する予後不良の未分

化の小円形悪性腫瘍を⁵ 発表した。これらの組織起源は不明のまま小型円形悪性細胞よりなる予後不良な別々の疾患として論じられていたが、1980 年代になり共通する特徴的な染色体転座が明らかにされ、1992 年には融合遺伝子も同定された。⁶ 現在では Ewing 肉腫と PNET は様々な程度の神経外胚葉性分化を示す同一の円形細胞性肉腫として定義されている。

若年者の小円形細胞性腫瘍の診断・治療に際しては、鑑別のひとつとして PNET も念頭に入れて抗 MIC2 抗体染色を施行することが重要である。しかしこれは感度

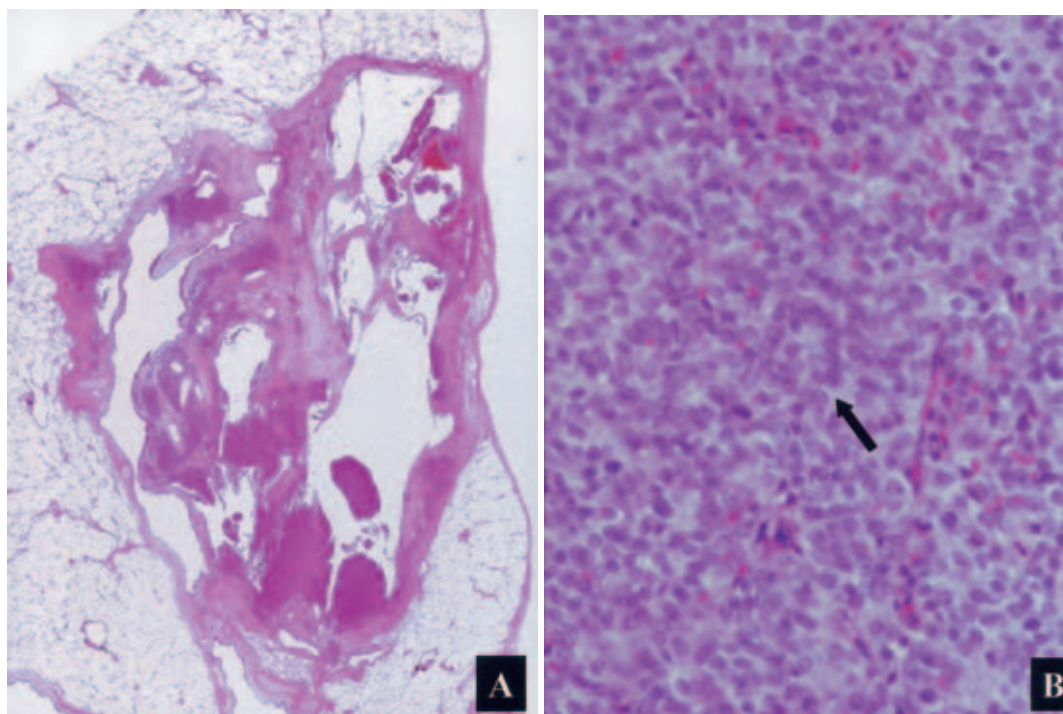


Figure 5. **A.** Low-magnification view of the tumor (HE). Note the degenerative change with scar, fibrotic capsule and xanthomatous element. Only about 20% of residual tumor cells are seen (Ef 2). **B.** Microscopic appearance. As is noted in the needle biopsy specimen, the residual tumor part consist of small round cell proliferation with partial Homer-Wright rosette-like structure (arrow head).

Table 1. Case Reports of Primary Pulmonary PNET

Case	Author	Age/ sex	Size (cm)	First Therapy	Recurrence	Disease free period	MIC II	Cytogenetic findings
1	Mikami Y et al. '01	17F	5.5	lobectomy	Thoracic wall	3M (died 9M after the 1 st operation)	+	t (11;22) (q24;q12) EWSFLI1 (Exon7/6)
2	Imamura F et al. '00	41M	5.2	lobectomy * + ND + chemotherapy (V/A/I)	None	22M (alive)	+	t (11;22) (q24;q12)
3	ditto	30F	5.0	lobectomy ** + ND + chemotherapy (P/E)	Non	16M (alive)	+	No viable tumor cells
4	Kahn AG et al. '01	18M	4.0	lobectomy	local	24M (died 24M after the 1 st operation)	+	t (11;22) (q24;q12)
5	Tsuji S et al. '98	25F	3.6	lobectomy	Metastasis (lung, ovary etc.)	? (died 24M after the 1 st operation)	+	—
6	ditto	15M	8.0	Chemotherapy (NR) + Lobectomy	None	24M (alive)	+	t (11;22) (q24;q12) EWSFLI1 (Exon7/5&Exon7/6)
7	Ueno M et al. '96	25F	4.0	Chemotherapy (C/A/V + P/E) Panpleuropneumonectomy	Metastasis (bone)	5M (died 6M after the 1 st operation)	+	?
8	Our case	31M	5.3	Chemotherapy (V/A/C + I/E) Lobectomy	None	6M (alive)	+	t (11;22) (q24;q12) EWSFLI1 (Exon7/5)

ND: Nodal dissection *: lobectomy with pericardial resection **: lobectomy with left atrial resection V: vincristine A: doxorubicin/adriamycin I: ifosfamide P: cisplatin E: etoposide C: cyclophosphamide NR: not reported

95%以上であるが、他にも横紋筋肉種、肺小細胞癌やカルチノイド、リンパ腫などにおいても陽性になることがある。そこでさらに特徴的な染色体転座や融合遺伝子を明らかにすることで、より確実に診断がつき、化学療法を開始することができる。今回の症例では、22番染色体上のEWS遺伝子と11番染色体上のFLI1遺伝子の融合によりEWS-FLI1キメラ遺伝子となっていた。t(11;22)(q24;q12)転座はPNET全体の95%に認められ、その90%近くがEWS-FLI1キメラ遺伝子を有している。また、この中でもEWS遺伝子のいずれのExonがFLI1遺伝子のどのExonと融合しているかによってさらに細かく分類され、¹⁴これは臨床病期と別個の予後予測因子となりうるとする報告もある。本症例のキメラ遺伝子はExon 7と5の間で融合したタイプであり、これは2番目に多く(Figure 4B)、Exon 7と6~9の間で融合した最も多いタイプと比較し、やや予後が劣る可能性が示唆されている。¹⁵

かつて5年生存率が10%に満たない予後不良の疾患とされていたが、現在までに欧米で組まれた数多くのプロトコールスタディをもとに系統的な集学的治療が導入され、治療開始前に転移のない症例では5年生存率60%以上に改善した。⁷

PNETの好発部位は四肢、骨盤、胸壁などである。予後不良因子は初診時遠隔転移陽性症例、腫瘍体積200 ml以上とされている。⁸また、腫瘍発生部位も予後因子のひとつであり、体幹部発生症例は四肢に発生したものより予後不良で、中でも骨盤発生は最も予後不良とされている。しかし肺内に限局した肺原発のPNETについては報告例が少なく、英語文献8例、日本語報告5例のみであり、その予後や標準的治療は明らかではない。本例を含め詳細の分かった計8例の報告⁹⁻¹³を検討したところ(Table 1)、年齢は15~41歳までで、性差は認めなかった。画像所見としては発見時のサイズがいずれも3 cm以上と大きいことが目立った。うち6例のCT画像が文献中に提示されていたが、本例も含めいずれも肺内に限局した境界明瞭な類円形の腫瘤であった。造影縦隔条件CTを提示していた4例と本例はいずれも腫瘍内部不均一な造影効果を示していた。術式としては7例に肺葉切除を基本とした根治切除がなされているが、リンパ節転移例はなく、播種もしくは悪性胸水が4例に認められた。再発形式は局所再発・胸膜播種または遠隔臓器への転移であった。無再発生存例は、本例も含め全身化学療法を初期治療のひとつとして施行した4例のみで、化学療法非施行例は2年以内に再発・死亡している。この術前・後化学療法施行し、無再発生存中の症例を報告している施設に問い合わせたところ、左房合併切除を施行した女性¹¹は切除後7年目の現在も無再発生存中であるとのこ

とである。報告症例数は少なく、観察期間が最長でも24ヵ月であり長期予後はいまだ不明であるが、他臓器に発生したPNETと同様悪性度の高い腫瘍であり、化学療法が長期予後に寄与する可能性が高いと思われる。

本症例はその後更にVACとifosfamide (I) + etoposide (E)との交代療法を完遂した(全経過47週)。その後も慎重な経過観察をしているが、現在術後12ヵ月無再発生存中である。

謝辞：稿を終えるにあたり、遺伝子検査を提供していただいた当研究所がん研究部 中村卓郎先生、当院呼吸器内科 宝来威先生、外科 佐藤之俊先生、本症例をご紹介くださった東京通信病院 呼吸器科 久田哲哉先生、原啓先生に深謝いたします。

REFERENCES

- Grier HE, Krailo MD, Tarbell NJ, et al. Addition of ifosfamide and etoposide to standard chemotherapy for Ewing's sarcoma and primitive neuroectodermal tumor of bone. *N Engl J Med.* 2003;348:694-701.
- Stout AP, Murray MD. Neuroepithelioma of the radial nerve with a study of its behavior in vitro. *Rev Can Biol.* 1942;1:651-659.
- Ewing J. Diffuse endothelioma of bone. *Proc NY Pathol Soc.* 1921;21:17-24.
- Angervall L, Enzinger FM. Extraskelletal neoplasm resembling Ewing's sarcoma. *Cancer.* 1975;36:240-251.
- Askin FB, Rosai J, Sibley RK, et al. Malignant small cell tumor of the thoracopulmonary region in childhood. *Cancer.* 1979;43:2438-2451.
- Zucman J, Delattre O, Plougastel B, et al. Cloning and characterization of the Ewing's sarcoma and peripheral neuroepithelioma t(11;22) translocation breakpoints. *Genes Chrom Cancer.* 1992; 5:271-277.
- Zucman J, Melir T, Desmaze C, et al. Combinational generation of variable fusion proteins in the Ewing family of tumours. *EMBO J.* 1992;359:162-165.
- de Alava E, Kawai A, Healey JH, et al. EWS-FLI1 fusion transcript structure is an independent determinant of prognosis in Ewing's sarcoma. *J Clin Oncol.* 1998;16:1248-1255.
- Jurgens H, Exner U, Gadner H, et al. Multidisciplinary treatment of primary Ewing's sarcoma of bone. A 6-year experience of a European Cooperative Trial. *Cancer.* 1988;61:21-32.
- Rosito P, Mancini AF, Rondelli R, et al. Italian Cooperative Study for the treatment of children and young adults with localized Ewing sarcoma of bone: preliminary report of 6 years of experience. *Cancer.* 1999;86:421-428.
- Mikami Y, Nakajima M, Hashimoto H, et al. Primary pulmonary primitive neuroectodermal tumor (PNET). A case report. *Pathol Res Pract.* 2001;197:113-119.
- Tsuji S, Hisaoka M, Morimitsu Y, et al. Peripheral primi-

- tive neuroectodermal tumour of the lung: report of two cases. *Histopathology*. 1998;33:369-374.
13. Imamura F, Funakoshi T, Nakamura S, et al. Primary primitive neuroectodermal tumor of the lung: report of two cases. *Lung Cancer*. 2000;27:55-60.
 14. Ueno M, Fujiyama J, Idei T, et al. A rare case of primitive neuroectodermal tumor of the right lung. *J Jpn Soc Clin Cytol*. 1996;35:460-465.
 15. Kahn AG, Avangnina A, Nazar J, et al. Primitive neuroectodermal tumor of the lung. *Arch Pathol Lab Med*. 2001; 125:397-399.