

# A lágyrészsarcomák patológiája

Sápi Zoltán

Semmelweis Egyetem, I. Sz. Patológiai és Kísérleti Rákkutató Intézet, Budapest

*A lágyrészsarcomák az összes malignus daganatok mintegy 1%-át alkotják, de viszonylag gyakoribbak a gyerek- és fiatal felnőttkorban, ami még inkább hangsúlyossá teszi időbeni felismerésüket és kezelésüket. A legújabb (2013-as) WHO-beosztás szerint a következő fő kategóriák különíthetők el: zsírszöveti, fibroblasztos/myofibroblasztos, myogen, pericytaer, vascularis, ideghüvely, chondro-ossealis irányú differenciációt mutató sarcomák, GIST, valamint a tisztázatlan hisztológiai differenciációt mutató daganatok és végül a differenciálatlan/nem klasszifikálható sarcomák csoportja, mely magába foglalja a korábbi malignus fibrosus histiocytoma csoportot. A pontos szövettani diagnózis mellett a malignitási fokozat (grade) megadása is igen fontos, mert alapvetően meghatározza a további kezelést. A grade-et az FNCLCC szisztéma szerint adjuk meg, mely annyiban különbözik a többi tumor grade-jétől, hogy számos esetben a szubttípus egyben grade-et is jelent. A műtét előtti diagnosztikában a vastag- és vékonytű-biopsziás minták megfelelő értékelése perdöntő, mert a képalkotó eljárásokkal együtt lényegében meghatározza a sebészi beavatkozás fajtáját, kiterjedését. A lágyrészsarcomák modern patológiai diagnosztikája ma is döntően a hematoxin-eozin metszetek fénymikroszkópos értékelésén alapszik, de elengedhetetlenül fontos egy széles immunhisztokémiai panel alkalmazása, valamint nemritkán a jellegzetes molekuláris eltérések detektálása, melyek egyaránt szükségesek a pontos diagnózishoz és az egyre bővülő célzott terápiás kezeléshez. Magyar Onkológia 58:11–23, 2014*

**Kulcsszavak:** lágyrészsarcoma, grade, transzlokáció

*Soft tissue sarcomas encompass around 1% of all malignant tumors, but they are relatively more frequent in childhood and adolescent age. This latter fact even more underlines that the proper diagnosis should be done in time for the optimal treatment. The very recent WHO classification (2013) lays down the following main categories: adipocytic tumors, fibroblastic/myofibroblastic tumors, so-called fibrohistiocytic tumors, smooth-muscle tumors, pericytic tumors, skeletal-muscle tumors, vascular tumors, chondro-osseous tumors, gastrointestinal stromal tumors, nerve sheath tumors, tumors of uncertain differentiation and undifferentiated/unclassified sarcomas (including the former malignant fibrous histiocytoma). Beside the proper diagnosis it is also important to give the grade which basically determines the therapy. We use the French Federation of Cancer Centers Sarcoma Group (FNCLCC) grading system. The choice of preoperative diagnosis can be both fine needle and core biopsy and together with radiological image analysis they define the type of surgical intervention. The modern pathological diagnosis of soft tissue sarcomas is still based on the examination of H&E slides but it is also necessary to have a wide immunohistochemical panel and to use molecular methods for the sake of precise diagnosis and the broadening possibilities of targeted therapy.*

Sápi Z. Pathology of soft tissue sarcomas. Hungarian Oncology 58:11–23, 2014

**Keywords:** soft tissue sarcoma, grade, translocation

Levelezési cím: Dr. Sápi Zoltán, Semmelweis Egyetem, I. Sz. Patológiai és Kísérleti Rákkutató Intézet,  
1085 Budapest, Üllői út 26. E-mail: sapi.zoltan.dr@gmail.com

Közlésre érkezett: 2014. január 10. • Elfogadva: 2014. március 1.

## BEVEZETÉS

A lágyrészsarcomák biológiai viselkedésüket illetően igen különbözőek. Egyrészt a jól differenciált grade I-es lágyrészsarcomák, mint pl. a végtagi atípusos lipomatosus tumor/jól differenciált liposarcoma lokális sebészi kezeléssel gyógyíthatók, másrészt egyes igen agresszív sarcomaféleségeknél, mint pl. az alveolaris rhabdomyosarcoma, az intenzív kemo- és/vagy radioterápia ellenére is szinte reménytelen az akár egyéves túlélés is. Természetesen a sarcomák többsége e két végletes csoport közé esik, és ezekben az esetekben az életkilátások nagy fokban függenek a legoptimálisabban megválasztott, többnyire kombinált sebészeti, kemoterápiás és sugárterápiás beavatkozásoktól. A lágyrészsarcomák pontos patológiai diagnosztikája annyiban tér el, és talán nehezebb, mint más szolid daganatok diagnosztikája, hogy

jóval több entitás létezik, és jóval nagyobb a differenciál-diagnosztikai „választék” is, valamint ritka daganatokról lévén szó, kisebb általában a tapasztalat. Ezért lényeges, hogy problémás esetekben másodvélemény szülessen egy nagy lágyrésztumor-forgalommal rendelkező patológiai centrumban. A lágyrészsarcomák diagnózisa fénymikroszkópos vizsgálaton alapul, de számos esetben kiegészítő immunhisztokémiai és molekuláris patológiai vizsgálatok is szükségesek a pontos diagnózishoz; ez utóbbiak gyakran csak centrumokban állnak rendelkezésre.

## A LÁGYRÉSZSARCOMÁK FELOSZTÁSA

A lágyrészsarcomák felosztása és osztályozása a hagyományos hisztogenetikai osztályozás szerint történik, de ma már nem gondoljuk, hogy valamilyen kiérett szö-

**1. táblázat.** A lágyrészsarcomák klasszifikációja a 2013 WHO-beosztás szerint, valamint a malignus csonttumrok beosztása

<p><b>Zsír szöveti tumorok</b> Atípusos lipomatosus tumor Myxoid liposarcoma Dedifferenciált liposarcoma Pleiomorph liposarcoma</p> <p><b>Fibroblasztos/myofibroblasztos tumorok</b> Myxofibrosarcoma Low-grade fibromyxoid sarcoma Szklerotizáló epithelioid fibrosarcoma Low-grade myofibroblasztos sarcoma Myxoinflammatoricus fibroblasztos sarcoma Felnőtt-fibrosarcoma Gyermeckori fibrosarcoma Dermatofibrosarcoma protuberans Agresszív fibromatosis</p> <p><b>Úgynevezett fibrohistiocytás daganatok</b> Plexiform fibrosus histiocytoma A lágyrészek óriássejtes tumora</p> <p><b>Pericytás tumorok</b> Malignus myopericytoma Malignus glomustumor</p> <p><b>Myogen tumorok</b> Leiomyosarcoma Embryonalis rhabdomyosarcoma Alveolaris rhabdomyosarcoma Orsósejtes rhabdomyosarcoma Pleiomorph rhabdomyosarcoma</p>	<p><b>Chondro-ossealis tumorok</b> Extrasceletalis osteosarcoma</p> <p><b>Vascularis daganatok</b> Angiosarcoma Kaposi-sarcoma Haemangioendothelioma</p> <p><b>Perifériás ideghüvelytumorok</b> Malignus perifériás ideghüvelytumor Malignus granulasejtes tumor</p> <p><b>Differenciálatlan/nem klasszifikálható sarcomák</b> Differenciálatlan orsó-, pleiomorph, epithelioid és kereksejtes sarcoma</p> <p><b>Bizonytalan szöveti differenciációt mutató tumorok</b> Synovialis sarcoma Epithelioid sarcoma Alveolaris lágyrészsarcoma Világossejtes sarcoma Extrasceletalis myxoid chondrosarcoma Lágyrész malignus myoepithelioma Desmoplasticus kis kereksejtes tumor Extrasceletalis Ewing-sarcoma Extrarenalis rhabdoid tumor PEComa</p> <p><b>Gastrointestinalis stromalis tumor (GIST)</b> Gastrointestinalis stromalis tumor</p>	<p><b>Malignus csonttumorok</b></p> <p><b>Chondrogen tumorok</b> Chondrosarcoma (grade I-III) Dedifferenciált chondrosarcoma Mesenchymalis chondrosarcoma Clear-cell chondrosarcoma</p> <p><b>Osteogen daganatok</b> Low-grade centralis osteosarcoma Konvencionális osteosarcoma Teleangiectaticus osteosarcoma Kissejtes osteosarcoma Parostealis osteosarcoma High-grade felszíni osteosarcoma</p> <p><b>Fibrogen tumorok</b> A csontok fibrosarcomája Ewing-sarcoma Malignus óriássejtes csonttumor</p> <p><b>Haematopoeticus tumorok</b> Plasmasejtes myeloma A csontok primer non-Hodgkin-lymphomája</p> <p><b>Vascularis tumorok</b> Epithelioid haemangioendothelioma Angiosarcoma</p> <p><b>Lágyrésztumorok</b> Leiomyosarcoma Liposarcoma Differenciálatlan high-grade sarcoma</p>
--	---	--

vet dedifferenciálódásáról lenne szó, hanem valójában pluripotens mesenchymalis össejtek valamilyen irányban differenciálódnak, és ez az irány határozza meg a tényleges hisztogenetikai besorolást (1). Egy példával élve, a rhabdomyosarcomák nem a harántcsíkt izomszövetből indulnak ki, hanem a pluripotens mesenchymalis össejt rhabdomyogen irányba differenciálódnak. Így érthető, hogy az egyes konkrét hisztogenetikai csoportok mellett miért olyan népes az úgynevezett tisztázatlan differenciációs irányú mutató csoport, hiszen ezekben az esetekben nem tudjuk konkrétan megmondani, hogy milyen szöveteleség felé történik a differenciáció. További nehézséget jelent, hogy a jellegzetes lokalizációt is figyelembe véve néha a megnevezés hagyományosan eszerint történik, mint pl. a synovialis sarcoma esetén, ami többnyire az ízületek környékén helyezkedik el, és a név ennyiben találó, de mégis félrevezető, minthogy semmi köze sincs a synovialis sejtekhez, illetve az ilyen irányú differenciálódáshoz. A synovialis sarcoma esetén a differenciálódás iránya tisztázatlan, ezért is kerül a tisztázatlan hisztológiai differenciációt mutató daganatok csoportjába, és így érthető, hogy nemcsak az ízületek környékén fordul elő ez a daganat, hanem gyakorlatilag bárhol, beleértve a tüdőt, szívet és a bélrendszert is (2). Az 1. táblázatban tekintjük át a legújabb (2013-as) WHO-beosztás szerinti fő kategóriákat (1). Kiemelendő, hogy a korábbi beosztáshoz képest a malignus fibrosus histiocytoma és a haemangiopericytoma csoport megszűnt, helyükbe a differenciálatlan/nem klasszifikálható sarcomák csoportja és a myopericytoma-csoport lépett.

Amennyiben az egyes lágyrészsarcomák molekuláris eltéréseit nézzük, akkor alapvetően két csoportot tudunk elkülöníteni, az egyik jellemzői a komplex kariotípus, a nagyfokú genetikai instabilitás és a megelőző „diszplasztikus-prekurzor” elváltozások (bár ezek jóval ritkábbak, mint a hámtumorok esetén). Ide tartozik pl. a leiomyosarcoma, a malignus perifériás ideghüvelytumor (MPNST), a myxofibrosarcoma stb. A másik népes csoport jellemzői a viszonylag egyszerű citogenetikai eltérés, mint pl. mutáció, transzlokáció, a transzlokációk során keletkezett fúziós gének, illetve e fúziós gének fehérjéi, melyek a daganat keletkezésében játszanak nagy szerepet. E daganatok de novo keletkeznek, ilyen pl. a synovialis sarcoma, myxoid liposarcoma, alveolaris rhabdomyosarcoma stb. (3). A karakterisztikus molekuláris eltéréseket (melyek száma egyre szaporodik) a 2. táblázatban soroljuk fel.

További jellegzetessége a lágyrészdaganatoknak, hogy a klasszikus benignus-malignus kategóriák mellett a lágyrésztumorok esetén egy ún. intermedier kategória is található, mely nagy recidív készséggel rendelkezik, de nem vagy extrém ritkán ad áttétet. Erre jó példa a dermatofibrosarcoma protuberans és a desmoid típusú fibromatosis. To-

**2. táblázat.** Jellegzetes molekuláris eltérések lágyrészsarcomákban

Kis kereksejtes desmoplasticus tumor	t(11;22)(p13;q12), EWS-WT1 fúzió
Extracseletalis Ewing/PNET	t(11;22)(q23;q12), EWS/FLI1 fúzió t(21;22)(q22;q12), EWS/ERG fúzió t(7;22)(p22;q12), EWS/ETV1 fúzió t(2;22)(q33;q12), EWS/FEV fúzió t(17;22)(q12;q12), EWS/E1AF fúzió inv(22)(q12q12), EWS/ZSG fúzió
Extracseletalis myxoid chondrosarcoma	t(9;22)(q22;q11), EWS/NR4A3 fúzió t(9;17)(q22;q11) RBP56-NR4A3 fúzió t(9;15)(q22;q21) TCF12-NR4A3 fúzió
Malignus rhabdoid tumor	22q SMARCB1(INI1) biállélikus károsodás
Alveolaris rhabdomyosarcoma	t(2;13)(q35;q14), PAX3/FKHR fúzió t(1;13)(p36;q14), PAX7/FKHR fúzió
Synovialis sarcoma	t(X;18)(p11;q11), SYT-SSX fúzió
Dermatofibrosarcoma protuberans	t(17;22)(q21;q13), COL1A1/PDGFB fúzió
Infantil is fibrosarcoma	t(12;15)(p13;q25), ETV6/NTRK3 fúzió
Inflammatoricus myofibroblastos tumor	2p23 génátrendeződés ALK/-TPM3, -TPM4, -clathrin és más gének fúziójával
Alveolaris lágyrészsarcoma	der(17)t(X;17)(p11;q25), ASPL-TFE3 fúzió
Epithelioid sarcoma	SMARCB1 (INI1) down-reguláció miR 206, 381 és 671-5p miatt
Clear-cell sarcoma	t(12;22)(q13;q12), EWS/ATF1 fúzió
Myxoid liposarcoma	t(12;16)(q13;p11) & DDIT2(CHOP)/FUS t(12;22)(q13;q12) & DDIT3/EWS fúzió
Low-grade fibromyxoid sarcoma	t(7;16)(q34;p11) & FUS/BBF2H7 fúzió
Atípusos lipomatosus tumor	MDM2- és CDK4-amplifikáció
GIST	1p-, 9p-, 14q- és 22q-deléció, c-kit- és PDGFRA- mutáció

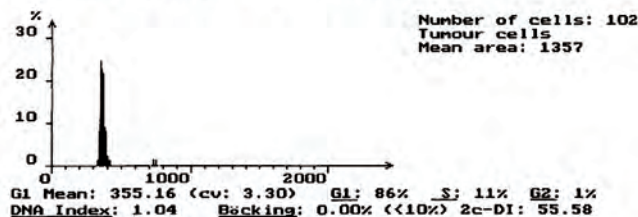
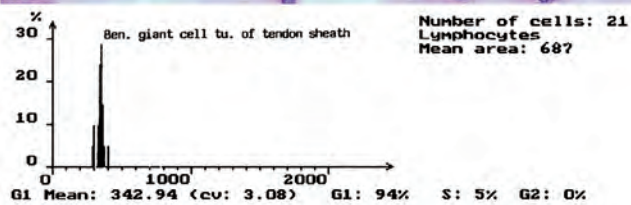
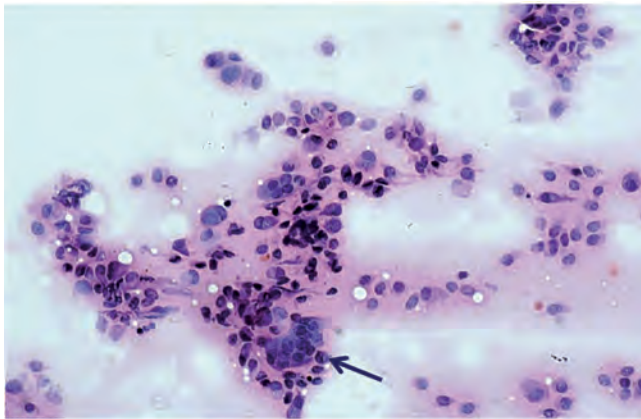
vábbi paradigmaváltást jelent, hogy pl. a GIST esetében potenciálisan malignus daganatról beszélünk, és a malignitás fokát nem a hagyományos grade-del jelöljük, hanem ún. rizikócsoportokat adunk meg (4).

## MŰTÉT ELŐTTI DIAGNOSZTIKA

A preoperatív diagnosztika lehetséges formái az aspirációs citológia (kenetet vizsgálunk), a vastagtű core-biopszia (melyben vékony szövethenger a vizsgálandó anyag) és az incizionális biopszia (ebben az esetben nagyobb szövetrészt vizsgálata lehetséges). Mindenképpen előnyben részesítendő az aspirációs citológia és a core-biopszia, és ha ez valamilyen oknál fogva nem vezet eredményhez, csak akkor jön szóba a feltárásos, incizionális biopszia, hiszen ebben az

esetben legnagyobb a tumor szórásának veszélye, illetve ebben az esetben sokszor a tumor eltávolítása során szélesebb kimetszés lesz szükséges. Az aspirációs citológia előnye, hogy gyors, a lelet aznap rendelkezésre áll, ha kiegészítő immun- vagy molekuláris vizsgálatra van szükség, akkor is másnapra a végleges lelet elkészülhet. Hátránya, hogy magasan képzett citopatológusra van szükség, és bár kiegészítő molekuláris vizsgálatokat sokszor könnyebb keneten végezni, mint szövethengeren, az immuncitokémiai vizsgálatok száma jóval korlátozottabb, mint a szövettani vizsgálatok során. A preoperatív vizsgálat során, bármilyen legyen is az, a grade alulértékelése gyakori, hiszen nem a teljes tumor vizsgálatáról van szó. Ugyanakkor a preoperatív sejtszintű vizsgálat elengedhetetlenül fontos, hiszen egy pontos, de akár egy megközelítően pontos diagnózis alapvetően meghatározza az első lépések (többnyire a tumor sebészi eltávolítása) mikéntjét és ezzel a betegség kimenetelét, a beteg sorsát. Az aspirációs citológiai vizsgálat során a következő kategóriákat tudjuk elkülöníteni, amennyiben kiegészítő vizsgálatokat végzünk, mint pl. immuncitokémia, citogenetika és a DNS-tartalom mérése (citofotometria) (5):

**1. ábra.** Az inak óriássejtes ínhüvelytumorára jellegzetes monomorf daganatsejtek a nyílnál osteoclast típusú óriássejttel. A DNS-hisztogram egyértelmű diploiditást mutat



- Benignus lágyrészdaganatok; benignus sejtkep, diploid DNS-tartalom, citogenetikai eltérés nem igazolható (1. ábra). A daganat akár sebészi eltávolítás során „kigördíthető”, azaz nem szükséges széles, éppen történő eltávolítás.
- Malignus lágyrészdaganatok; polimorf, atípusos sejtkep, aneuploid DNS-tartalom, nem detektálható semmilyen jellegzetes citogenetikai eltérés (2. ábra). Széles, éppen történő eltávolítás javasolt, illetve preoperatív kemo/radioterápia lehetséges.
- Malignus lágyrészdaganat szövettani értékű diagnózissal; atípusos sejtkep, és kimutatható a jellegzetes citogenetikai eltérés, többnyire valamilyen transzlokáció. A DNS-tartalom meghatározása indifferens, lehet közel diploid vagy aneuploid (3. ábra). Széles, éppen történő eltávolítás javasolt, illetve preoperatív kemo/radio/céltartó terápia lehetséges.
- Lágyrészdaganatok kérdéses biológiai viselkedéssel; ebben az esetben se a citomorfológiai kép, se a kiegészítő vizsgálatok eredményei nem adnak kellő felvilágosítást, hogy a daganat vajon jó- vagy rosszindulatú, vagy esetleg az intermedier malignitású csoportba tartozik-e. Ebben az esetben széles, éppen történő eltávolítás és szövettani vizsgálat javasolt a további terápia meghatározása céljából. Amennyiben radikális műtét lehetséges csak, akkor feltárásos biopszia vétele szükséges a konkrét szövettani diagnózishoz.

## GRADE

A lágyrésztumorok grade-je, szemben számos szolid malignus hámtumorral, nagy jelentőséggel bír, mert meghatározza a terápiát. A lágyrészsarcomák grade-elése Európában, de gyakorlatilag szerte a világon a French Federation of Cancer Centers Sarcoma Group (FNCLCC) grading szisztémája szerint történik (6). Az FNCLCC rendszer három paramétert vesz figyelembe: a tumor differenciációját (1–3 pont), a mitotikus aktivitást (1–3 pont) és a tumornekrózis mértékét (1 és 2 pont). A grade I-es daganatok összesített pontértéke 2 vagy 3, a grade II-eseké 4 vagy 5, míg az e fölötti értékek grade III-nak számítanak. A hisztológiai grade számos lágyrészsarcoma esetén a legjobb prognosztikai faktor, a stádiummeghatározáshoz a grade elengedhetetlen, és a modern onkológiai kezelésben nagy jelentőségű a grade, minthogy a grade I-es daganatok esetén csak sebészi kezelés ajánlott, a grade II-es tumorok esetén individuális mérlegelés, míg a grade III-as lágyrészsarcomák esetén kemo- és radioterápia vagy ezek kombinációja is szükséges. Ugyanakkor nagyon fontos tudni azt, hogy bizonyos lágyrésztumorok esetén a grade jól alkalmazható, míg mások esetében nem, és több tényezőt is figyelembe kell venni, mely „felülírhatja” a grade-et. Ilyen lehet pl. a kor, minthogy mind a felnőttkori, mind az infantilis fibrosarcoma többnyire grade II-es da-

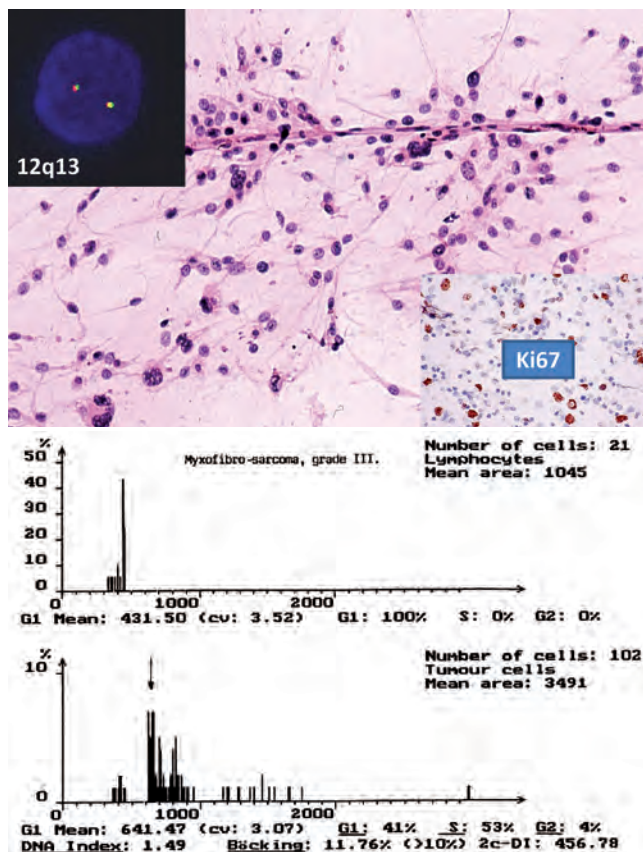


ganat, de az infantilis fibrosarcoma sokkal jobb indulatú, és általában elegendő a sebészi kezelés és a szoros obszerváció. A lokalizáció szintén befolyásolhatja a kezelést, minthogy pl. grade II-es daganatoknál a szuperficiális elhelyezkedés inkább csak a sebészi kezelés felé billenti a mérleget, míg mély grade II-es lágyrésztumoroknál majdnem mindig kiegészítő kezelés is szükséges.

## A LÁGYRÉSZTUMOROK DIFFERENCIÁLDIAGNOSZTIKÁJA

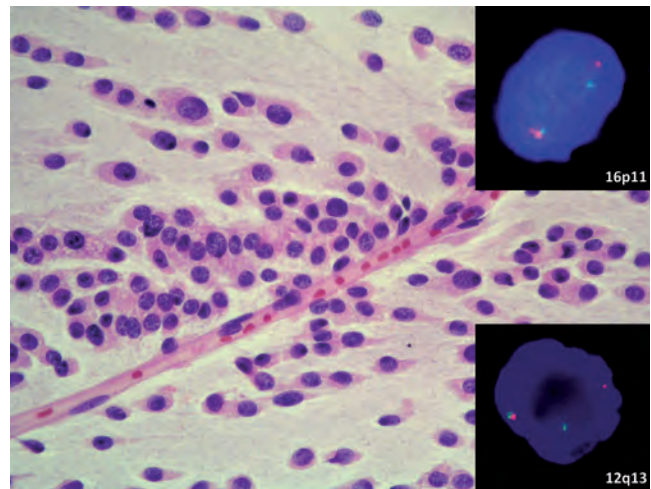
A lágyrésztumorok diagnosztikájának szépsége és egyben nehézsége is sokféleségükben rejlik. Elsősorban a különböző lágyrésztumorokat egymástól kell elkülöníteni, de

**2. ábra.** Atípusos, részben polimorf daganatsejtek myxofibrosarcomából vékony kapillárral, mely felveti myxoid liposarcoma lehetőségét is. FISH-technikával, break apart próbát használva azonban a myxoid liposarcomára jellegzetes t(12;16) transzlokáció nem igazolható (szignálsztétválások nem láthatók), így e diagnózis elvethető (bal felső inzert). Ugyanakkor jelentős Ki67-pozitivitás, azaz proliferáció mutatkozik (jobb alsó inzert), valamint egyértelmű aneuploiditást mutat a DNS-hisztogram. Mindezek alapján a citológiai diagnózis magas malignitású lágyrészsarcoma volt

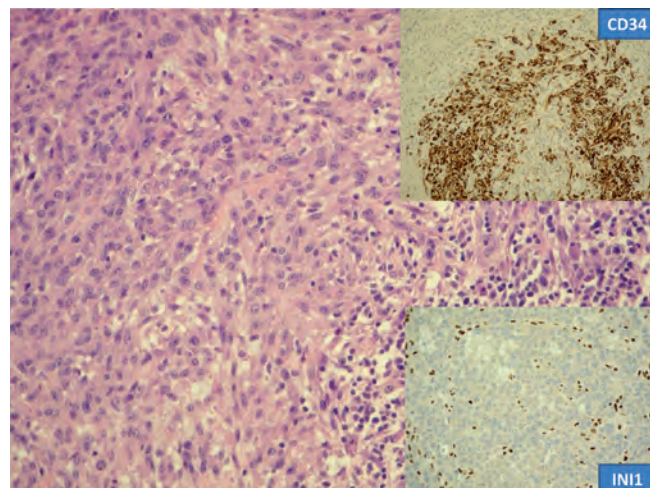


egyes morfológiai megjelenési formák más tumoroktól való elkülönítést is szükségessé tesznek. Ilyenek az epithelioid karakterű lágyrészsarcomák, melyeket carcinomaáttétől kell elkülöníteni. Pl. az epithelioid sarcoma elkülönítése idősebb felnőttkorban carcinomaáttétől igen problémás, hiszen a hasonló morfológiai megjelenés mellett mindkettő általános hám (keratin) és mesenchymalis (vimentin) markerek koexpressziójával jellemezhető (7). Ugyanakkor az epithelioid sarcoma az esetek mintegy 50%-ában CD34-pozitivitást mutat (ami carcinomákban gyakorlatilag nincs), és több mint 90%-ban INI1-magnegativitást

**3. ábra.** Myxoid liposarcoma jellegzetes citológiai képe viszonylag monomorf daganatsejtekkel és vékony kapillárral. FISH-vizsgálattal mindkét break apart próba szignálsztétválásokat mutat, így a myxoid liposarcomára jellegzetes t(12;16) transzlokáció igazolható, és egyben szövettani értékű diagnózis adható



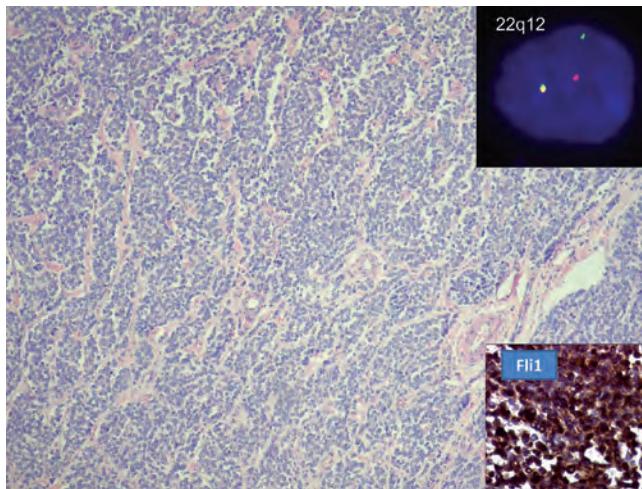
**4. ábra.** Epithelioid sarcoma jellegzetes szöveti képe, mely carcinomaáttétől a CD34-pozitivitás és az INI1-negativitás (inzertek) alapján különíthető el



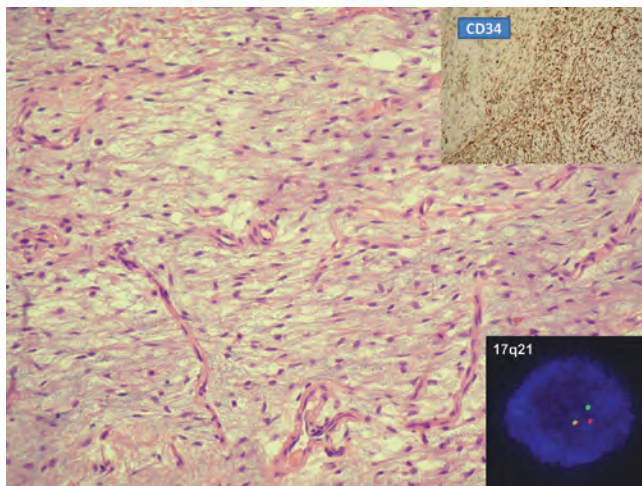


ad (ami szintén nem jellemző carcinomákra), melyek segítségével biztonsággal elkülöníthető carcinomaáttétől (4. ábra). A pontos diagnózis nagyon fontos, hiszen nagy különbség van aközött, hogy egy primer lágyrészsarcomát kell-e kezelni, vagy téves diagnózis esetén elkezdődik egy reménytelen primertumor-keresési folyamat, minden következményével. Másik fontos csoport a kis kereksejtes tumorok differenciáldiagnosztikájának kérdése, mely esetén számos lágyrésztumor-féleséget kell elkülöníteni egy-

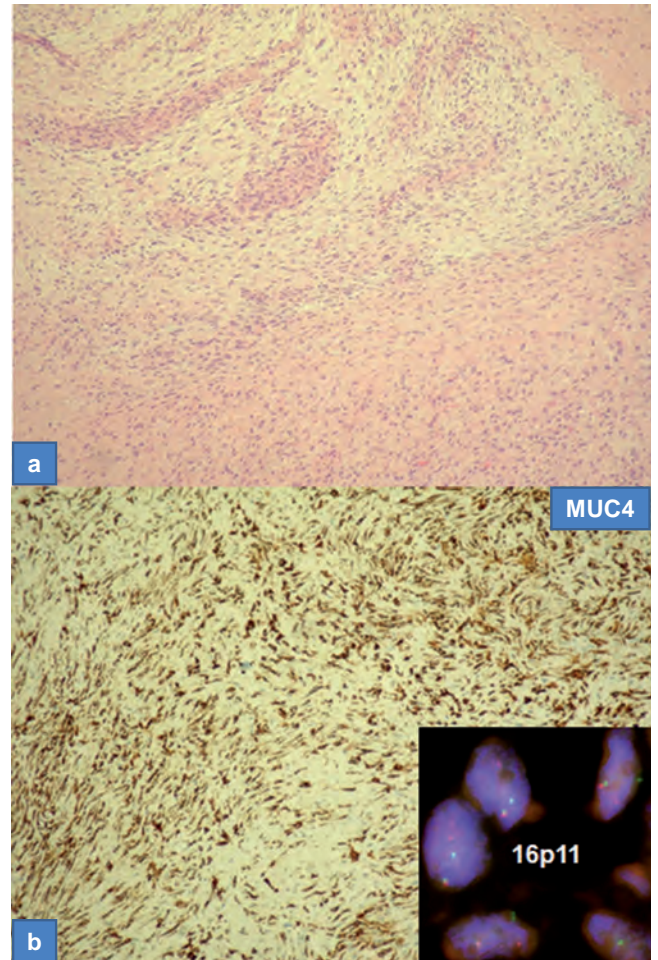
**5. ábra.** Kis kereksejtes tumor jellegtelen szöveti képe, a diagnózis a Ewing-sarcomára jellegzetes t(11;22) transzlokációval igazolható, mely a Flil (11q23) és Ewing- (22q12) gének fúzióját eredményezi



**6. ábra.** Jellegtelen myxoid tumor szöveti képe, a dermatofibrosarcoma protuberansra (DFSP) jellemző storiform mintázat nem mutatkozik. A diagnózist a diffúz CD34-pozitivitás és a DFSP-re karakterisztikus COL1A1 (17q21) érintettség (szignálsztérválások) igazolják (inzertek)



**7. ábra.** Monomorf daganatsejtek mozaikszerű myxoid és sejtdús területeket tartalmazó váltakozása (a) a low-grade fibromyxoid sarcomára jellegzetes MUC4-pozitivitással (b) és a karakterisztikus FUS gén (16p11) érintettségével (FISH break apart próba, szignálsztérválások, inzert)

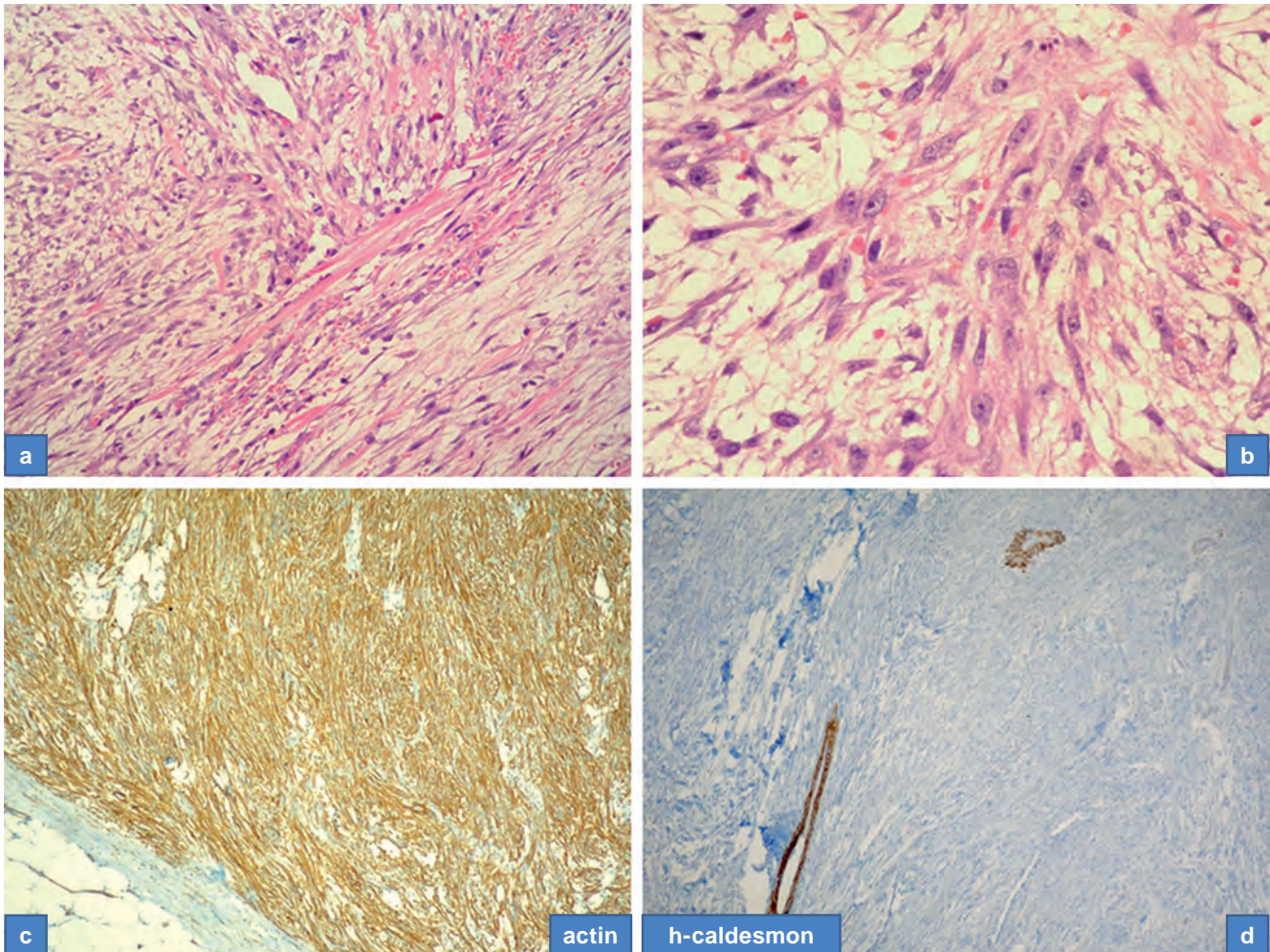


mástól és más tumorféleségektől (8). Ebbe a csoportba tartozik az extrasceletalis Ewing-sarcoma, a kis kereksejtes desmoplasticus tumor, az alveolaris rhabdomyosarcoma, a neuroblastoma, blastos típusú lymphomák és a tisztán blastomás Wilms-tumor. Ezek elkülönítése a jellegzetes klinikai megjelenés mellett alapvetően molekuláris vizsgálatokkal és kiegészítő immunhisztokémiai vizsgálatokkal lehetséges (5. ábra).

Alapvető probléma a lágyrésztumorok esetén az egyes variánsok megjelenése, mint pl. a myxoid variánsoké. Alig van olyan lágyrészsarcoma, melynek ne lenne myxoid variánsa (9, 10). Ilyen pl. az igen ritka myxoid dermatofibrosarcoma protuberans (11), amit igen nehéz elkülöníteni a grade I-es myxofibrosarcomától, sőt morfológiai alapon nem is lehetséges. Ugyanak-



**8. ábra.** Fasciitis nodularis szöveti képe jellegzetes pseudosarcomatosus megjelenéssel (a és b). A myofibroblastos eredetet igazolja a diffúz alfa-simaizomaktin-pozitivitás (c) mellett a h-caldesmon-negativitás (d)



kor a dermatofibrosarcoma protuberans a COL1A1 gén transzlokációjával és erős CD34-pozitivitással jellemezhető, ami biztosítja a diagnózist (6. ábra). Néha a nomenklatura is zavaró lehet, és kérdésessé válik, hogy nem ugyanazon entitás variánsáról van-e szó. Erre példa a low-grade fibromyxoid sarcoma és a jól differenciált (grade I) myxofibrosarcoma. A két entitás valójában mind genetikailag, mind biológiai viselkedésében lényegesen eltér egymástól; míg a jól differenciált myxofibrosarcoma gyakorlatilag nem ad áttétet, de nagy recidív készsége van, addig a morfológiailag szinte benignusnak tűnő low-grade fibromyxoid sarcoma az esetek mintegy 30-50%-ában kb. 5-10 éven belül metasztázist ad.

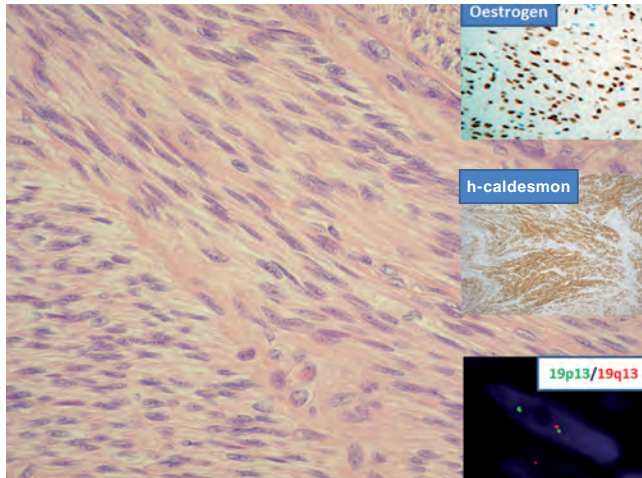
A két entitás morfológiai alapon gyakorlatilag nem különíthető el, de a low-grade fibromyxoid sarcoma specifikus MUC4-pozitivitással és a FUS gén érintettségével jellemezhető (7. ábra). Számos jóindulatú entitás morfológiai

megjelenésében lágyrészsarcomát utánoz, és csak az entitás pontos ismerete és a kiegészítő klinikai adatok segítenek a pontos diagnózisban. Ilyen entitások a fasciitis nodularis, a proliferatív fasciitis, a proliferatív myositis és a myositis ossificans. Mindezek gyorsan növekvő myofibroblastos jóindulatú tumorok, és alapvetően leiomyosarcomától kell őket elkülöníteni (12). A myofibroblastos tumorokra jellemző, hogy az alfa-simaizomaktin erősen pozitív lehet, míg a h-caldesmon negatív, ez utóbbi reakció azonban a leiomyosarcomákban pozitív (8. ábra).

A leiomyogen daganatok esetében külön problémát jelent, hogy a benignitás-malignitás kérdésében külön szabályok vonatkoznak az uterus (genitalis) és az egyéb lágyrész-lokalizációjú daganatokra, és a szigorú kritériumok ellenére egyes entitásoknál csak a genetikai eltérés kimutatása segíthet a pontos diagnózis felállításában. Ilyen daganat pl. a metasztatizáló benignus leiomyoma (13), amely



**9. ábra.** Benignus metasztatizáló leiomyoma teljesen benignus szöveti képe tüdőmetasztázis kivett anyagából. A diagnózist az ösztrogénreceptor- és h-caldesmon-pozitivitás mellett a 19q13-as deléció (FISH, piros szignál, melyből kettő helyett csak egy van) biztosítja (inzertek)



esetében még a metasztázis is morfológiailag benignus, és csupán a jellegzetes 19q13-deléció biztosítja a helyes diagnózist (9. ábra). Korábban igen nagy problémát jelentett a pleiomorph lipoma és az atípusos lipomatosus tumor elkülönítése, sőt szinte lehetetlen volt csupán morfológiai alapon, mióta azonban kiderült, hogy az atípusos lipomatosus tumorok esetében MDM2- és CDK4-amplifikáció jellemző, ezek akár immunhisztokémiai vagy fluoreszcens in situ hibridizációs (FISH) módszerekkel kimutathatók (14, 15), és így egyértelműen diagnosztizálhatók (10. ábra).

A molekuláris vizsgálatok napi rutin szinten is bevonultak a lágyrésztumorok diagnosztikájába, amire szép példa a gastrointestinalis stromalis tumor (GIST). Részben a terápia miatt, részben néha diagnosztikus célból is mutációanalízist végzünk (szekvenálással) a c-kit és a PDGFRA gén tekintetében (16). A kimutatott mutációk milyensége alapvetően meghatározza a kezelést (11., 12. ábra).

## KUTATÁS

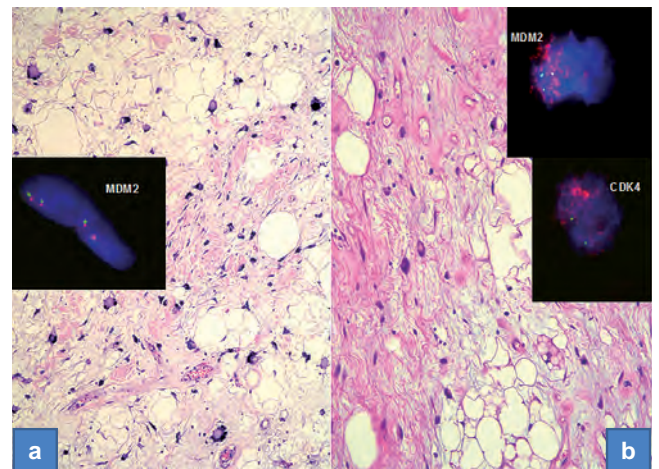
Az utóbbi évek főbb kutatási irányai lényegében megegyeznek más szolid tumorok kutatási tendenciáival, ami főleg a genetikai, epigenetikai eltérésekre összpontosít, és arra koncentrál, hogy milyen jelütrendszerekkel vannak összefüggésben. Mindez nyilvánvalóan a daganat keletkezésének jobb megértését eredményezi, segít a diagnosztikában, és reményt ad célzott terápiás kezelésekre is. Az alábbiakban az általunk végzett főbb kutatási eredményekről számolok be.

A perifériás ideghüvelytumorok (PNST) meglehetősen heterogén csoportot képeznek, több mint 20 entitással. Bár a leggyakoribbak a konvencionális Schwannomák és neurofibromák, melyek nem okoznak differenciáldiagnosztikai problémát, számos altípust már jóval nehezebb malignus lágyrésztumoroktól (elsősorban MPNST-től) elkülöníteni, ilyenek pl. az ancient, cellularis, neuroblastoma-like és a multiplex Schwannoma. Mindezt figyelembe véve kerestük azokat az objektív kapaszkodókat, melyek segítenek az elkülönítésben.

Ilyen objektív kapaszkodó lehet a ploiditás és a kromoszomális instabilitás vizsgálata (17). 44 perifériás ideghüvelytumor vizsgálatát végeztük, ezek közül 27 benignus Schwannomát választottunk ki, amelyek között 5 ancient, 2 cellularis (pseudosarcomatosus), 2 neuroblastoma-like, és 1 multiplex variáns volt. A kiválasztott 9 neurofibroma egy atípusos-cellularis szubtypust foglalt magában. A 8 malignus perifériás ideghüvelytumorból 2 malignus epithelioid tumor volt. A nyomkövetési idő legalább 5 év volt. A DNS-ploiditás vizsgálata mellett (citofotometria) három reprezentatív kromoszómát választottunk ki – 7-es, 17-es, és 18-as kromoszómákat (FISH-vizsgálat) – a kromoszomális instabilitás vizsgálatára.

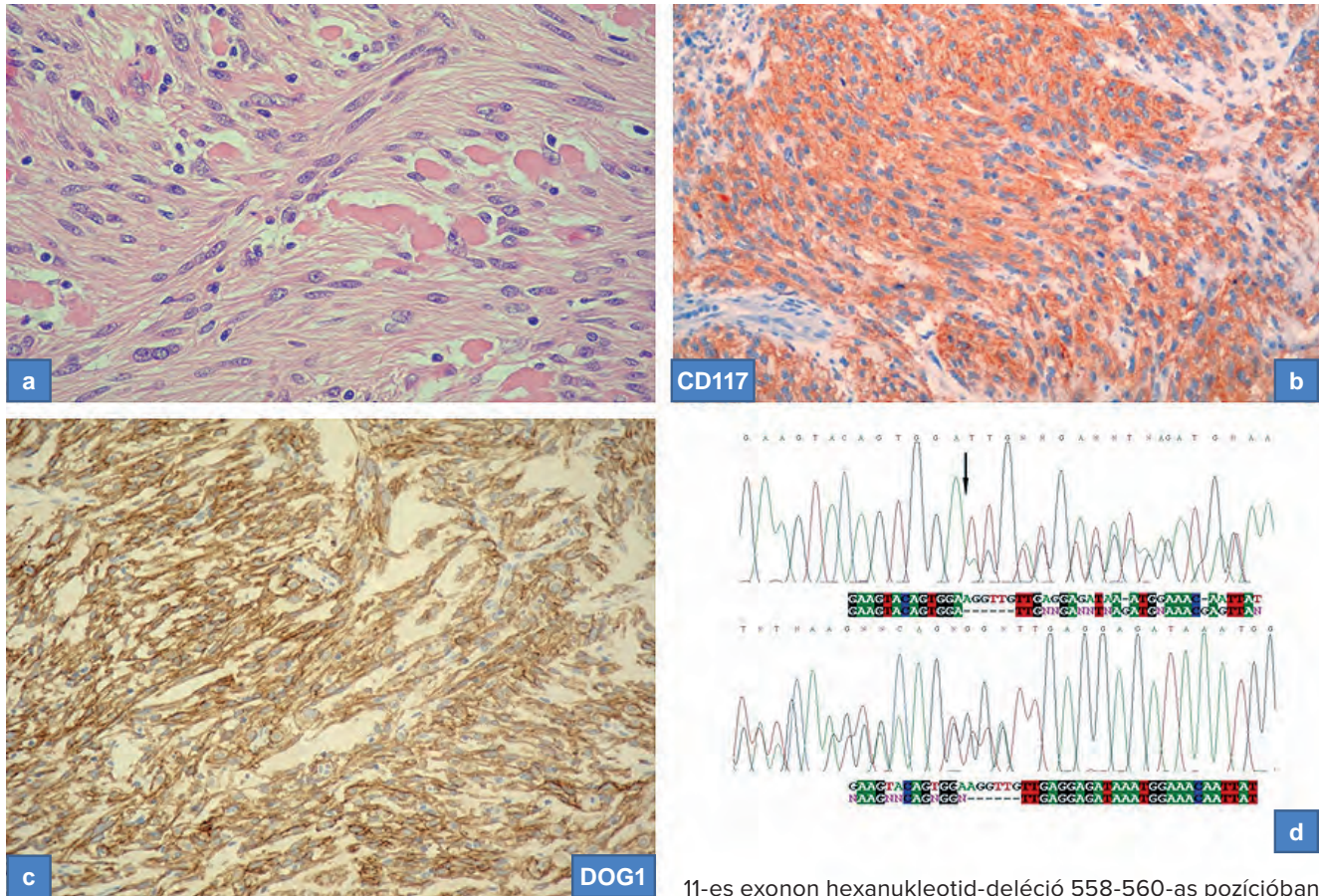
Elsőként mutattunk rá a perifériás ideghüvelytumorok genetikai instabilitásának mechanizmusára, igazolva, hogy a benignus Schwannomák kis százalékban kiegyen-

**10. ábra.** Pleiomorph lipoma (a) és atípusos lipomatosus tumor (b) szinte teljesen ugyanolyan szöveti képe. A helyes diagnózis az MDM2 és a CDK4 amplifikációjának kimutatásával lehetséges. Míg pleiomorph lipoma esetén nincs amplifikáció (zöld szignál: 12-es kromoszóma centromerikus próba és piros szignál: MDM2), azaz két-két szignál látható, addig az atípusos lipomatosus tumor esetén számtalan piros szignál mutatkozik (MDM2 és CDK4) (inzertek)





**11. ábra.** Gastrointestinalis stromalis tumor (GIST) jellegzetes szöveti képe (orsósejtes típus) skeinoid rostokkal (a). A GIST-ek mintegy 90%-a CD117- (c-kit) pozitívást és közel 100%-a DOG1-pozitívást mutat (b és c). Mintegy 70%-ban találjuk a c-kit gén 11-es exonjának mutációját (d, szekvenálás)



11-es exonon hexanukleotid-deléció 558-560-as pozícióban

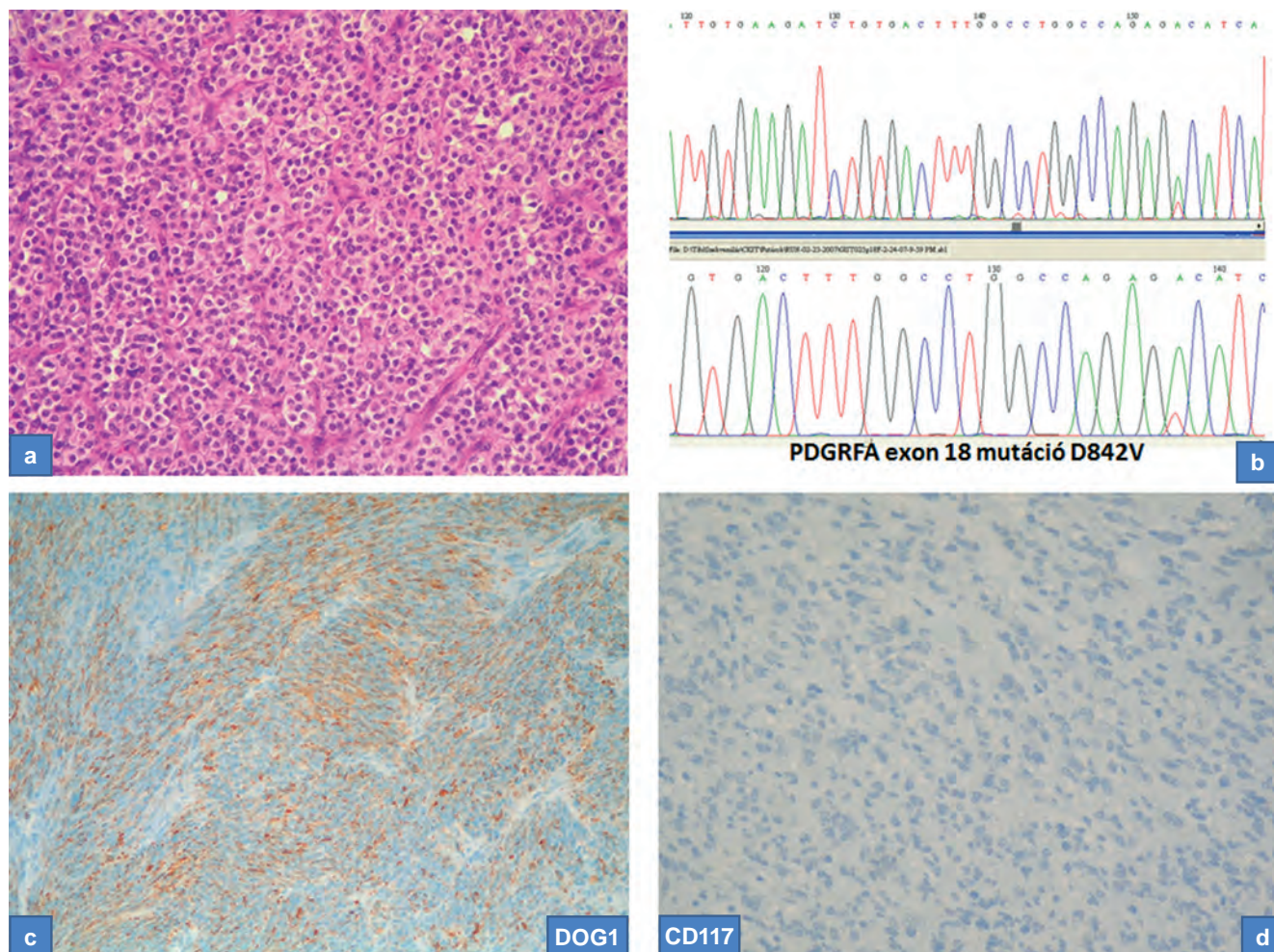
súlyozott aneuszómiát mutatnak, míg az atípusos perifériás ideghüvelytumorkban mindez jóval nagyobb százalékban fordulhat elő, ami alapján a daganat „diszplastikus – prekursor” lézióknak tekinthető (13. ábra).

GIST-ek esetében a tirozinkináz-receptor szignálok a foszfatidil-inozitol-3-kináz (PI3 K)/Akt/mTOR jelútrendszeren keresztül futnak (többek között), mely jelút részben a fehérjetranszláción keresztül fokozott sejtproliferációhoz és gátolt apoptózishoz vezet. Az mTOR foszforilálja, mint közvetlen célmolekulákat, a 4EBP1 és p70S6 kináz foszfo-4ebp1 release iniciációs faktort, és a foszfo-p70S6K foszforilálja az S6 riboszomális fehérjét, ami végül is a transzláció beindítását eredményezi. Azok a jelutak, melyek szabályozzák az mTOR-aktivitást, igen gyakran aktívak a humán rosszindulatú daganatokban, és a szövettényezeteken végzett vizsgálatok arra engednek következtetni, hogy az Akt/mammalian target of rapamycin (mTOR) jelútrendszer fontos szerepet játszhat a GIST-ekben. 108 paraffinos blokkot vizsgáltunk 108

GIST-es betegből (18). Két független patológus vizsgálta az immunfestett metszeteket (TMA) pontozásos rendszert használva. A TMA metszeteket foszfo-4EBP1, foszfo-p70S6K és foszfo-S6 elleni antitestekkel festettük, melyek „downstream” célfehérjéi az mTOR-kináznak. A pozitívás intenzitását (negatív, mérsékelt vagy erős), a pozitív sejtek mennyiségét (elszórt: <5%, fokális: 5–30%, kiterjedten fokális: 30–70%, és diffúz: >70%) vettük figyelembe. E kritériumok alapján az egyes antitestek festődését a következőképpen értékeltük: erős pozitívás (kiterjedten fokális vagy diffúz erős pozitívás vagy diffúz mérsékelt pozitívás; ++), részben pozitív (elszórt vagy fokális erős festődés vagy kiterjedten fokális mérsékelt festődés; +), és negatív (–). A három antitest komplex kiértékelése után az mTOR-jelút aktivitásának mértékét az alábbiak szerint határoztuk meg: aktív (mind a három immunreakció erősen pozitív, vagy 2 erősen pozitív és 1 fokálisan), inaktív (mind a 3 festés negatív vagy 2 negatív és egy fokálisan pozitív) vagy részlegesen aktív (minden további kombináció). Ha külön-



**12. ábra.** Jóval ritkább epithelioid típusú GIST szöveti képe (a) DOG1-pozitivitással (c), de a CD117 negatív (d). Ezekben az esetekben a c-kit gén helyett a PDGFRA gén mutált, gyakran a jellegzetes D842V rezisztenciamutációval (b)



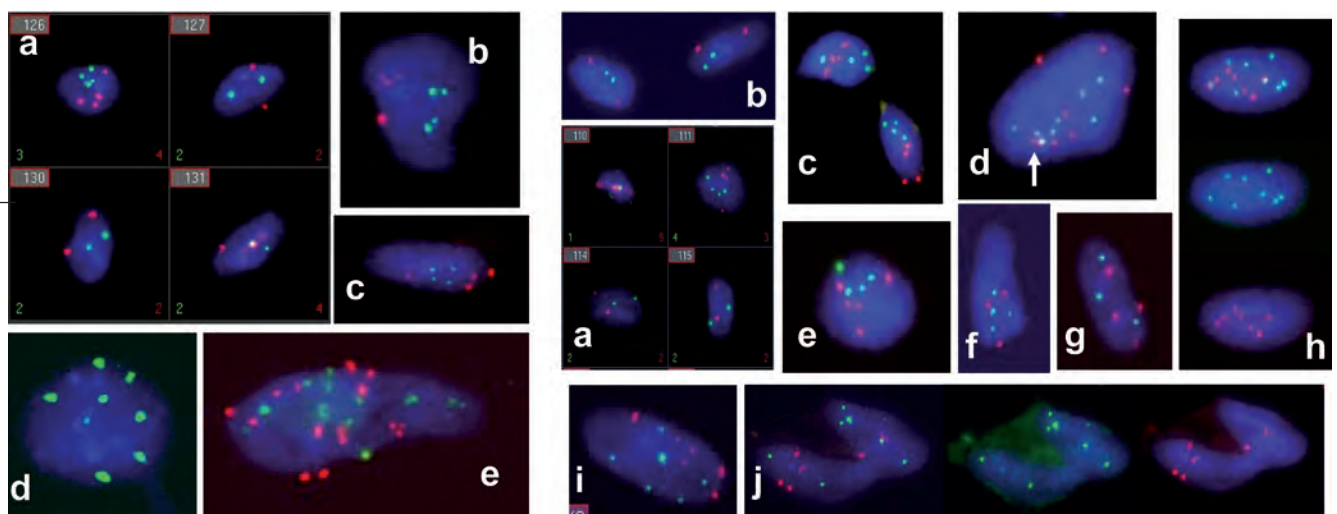
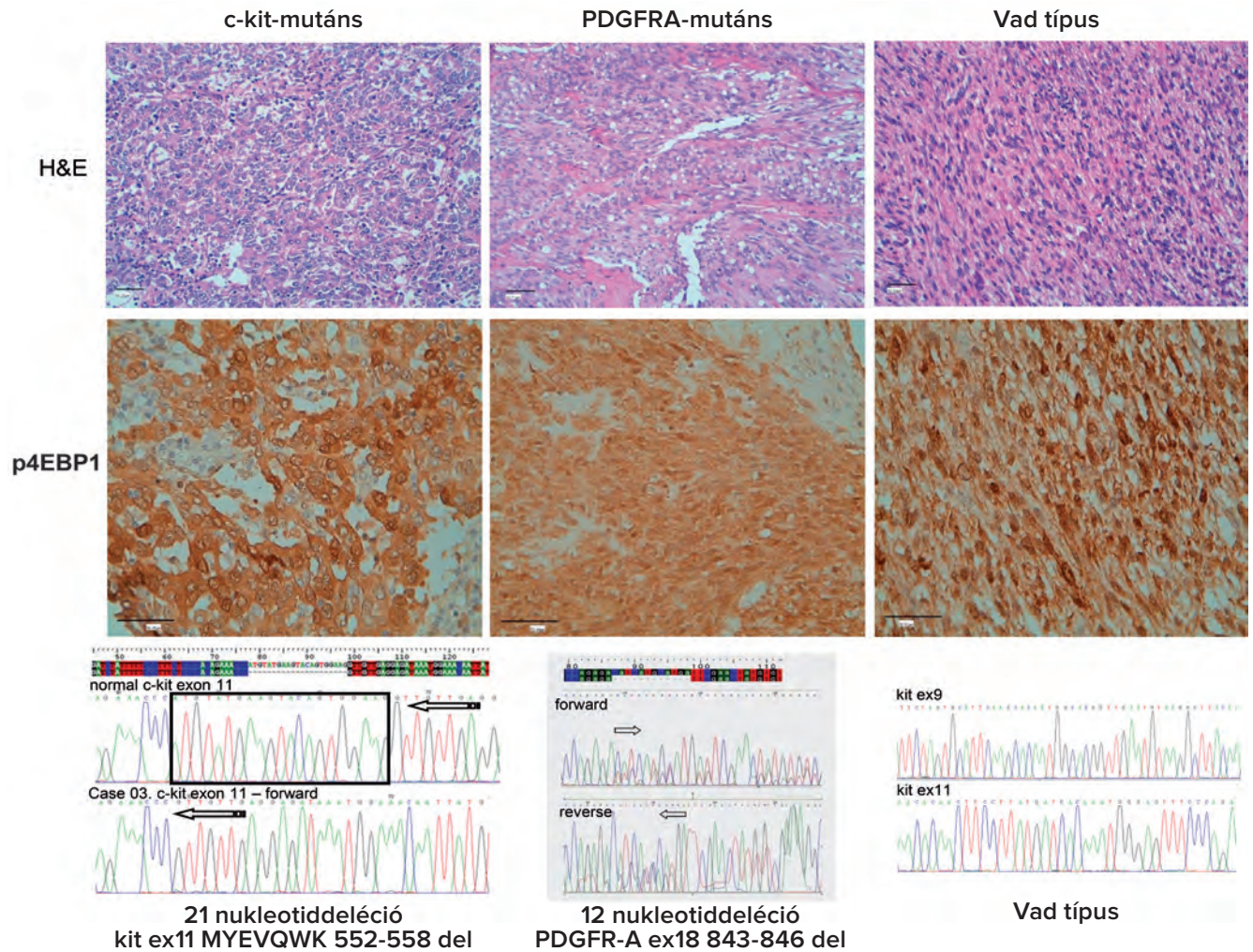
bontottuk az aktív, részlegesen aktív és inaktív eseteket, akkor a következő eredményt kaptuk: a 73 c-kit-mutált esetből 45 volt inaktív, 20 részlegesen aktív és 8 aktív. A 12 PDGFRA-mutáns eseteket illetően 2 inaktív, 3 részlegesen aktív és 7 aktív eset volt. A 23 vad típusból 6 inaktív, 13 részlegesen aktívát és 4 aktívát találtunk. Szignifikáns

különbséget találtunk az egyes csoportok (c-kit-mutált 38,4%, vad típus 73,9% és PDGFRA-mutált 83,3%) között az aktivitás mértékét illetően:  $P=0,000621$  (14. ábra). Elsőként mutattunk rá arra, hogy az aktív mTOR-jelútrendszer kevésbé jellemző a c-kit-mutált GIST-ekre, viszont karakterisztikus a PDGFRA-mutált és vad típusú GIST-ek ese-

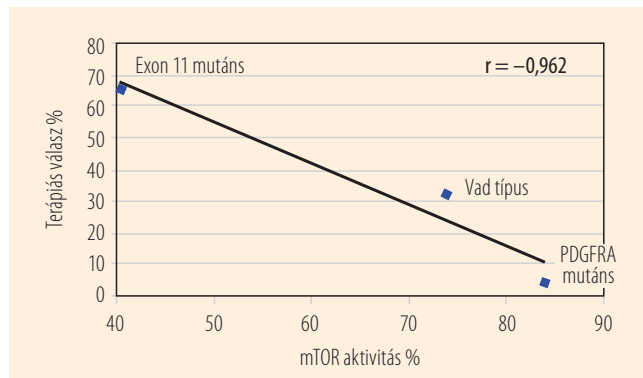
**13. ábra.** Bal oldali kép: FISH szignálok ancient Schwannómában karakterisztikus euszómiás poliszómiával. a) Metafer-4 monitorkép 3 diszómiás és egy tetraszómiás daganatsejttel; b, c) bizarr és „normális” daganatsejt tetraszómiával; d) oktaszómiás tumorsejt; e) erősen megnagyobbodott daganatsejt 16 piros és zöld szignállal. a, b, c, e) kettős színes FISH-technika, a piros jelek a 18-as, míg a zöld jelek a 17-es kromoszómának felelnek meg. d) FISH-technika, a zöld jelek a 7-es kromoszómának felelnek meg. Jobb oldali kép: FISH-szignálok atípusos neurofibromában euszómiás-poliszómiás és aneuszómiás sejtekkel. a) Metafer-4 monitorkép két diszómiás és egy tetraszómiás tumorsejttel. A negyedik sejt kiértékelésre alkalmatlan; b) diszómiás daganatsejt; c) tetraszómiás tumorsejt; d) oktaszómiás daganatsejt, a nyíl két piros és egy zöld szignált mutat; e) tetraszómia a 17-es kromoszómára és pentaszómia a 18-as kromoszómára; f) tetraszómia a 17-es és triszómia a 18-as kromoszómára; g) tetraszómia a 18-as és triszómia a 17-es kromoszómára; h) oktaszómiás a 17-es és heptaszómia a 18-as kromoszómára; i) hexaszómiás tumorsejt; j) osztódó tumorsejt egyértelmű aneuszómiával



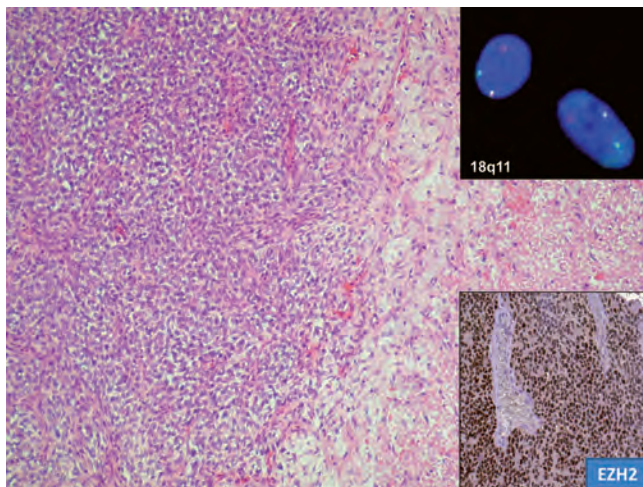
**14. ábra.** c-kit-mutáns, PDGFRA-mutáns és vad típusú gastrointestinalis stromalis tumor esetek reprezentatív hematoxilin-eozin képe, p4EBP1 immunreakciója és szekvenogramja. Mérsékelt-erős p4EBP1-pozitivitás 27/73 c-kit-mutáns esetben, 8/12 PDGFRA-mutáns esetben és 12/23 vad típusú esetben volt. A vonal 50 mikrométert jelez



**15. ábra.** Lineáris regressziós diagram, mely szoros inverz összefüggést mutat az mTOR-aktivitás és a terápiás válasz között



**16. ábra.** Gyengén differenciált synovialis sarcoma szöveti képe erős magi EZH2-pozitivitással (jobb alsó inzert). Gyengén differenciált synovialis sarcoma esetén a diagnózist a jellegzetes t(X;18) transzlokáció igazolásával kell bizonyítani (jobb felső inzert, FISH, szignálsztérválások igazolhatók)



tén, bővítve ezzel a vad típusú és a PDGFRA-mutált GIST-ek kezelési lehetőségeit (15. ábra).

A synovialis sarcomákat illetően 55 esetet vizsgáltunk enhancer of zeste homologue 2 (EZH2) tekintetében (19). Az EZH2 a polycomb group (PcG) fehérjecsald tagja, és fontos szerepe van epigenetikai mechanizmusokon keresztül a sejtciklus szabályozásában, a DNS-károsodások javításában, a sejt differenciációban és az apoptózisban. Az EZH2 általában blastos jellegű, rossz prognózisú tumorokban expresszálódik, és ezért kíváncsiak voltunk, hogy milyen az EZH2 expressziója a synovialis sarcomákban.

Immunhisztokémiai és mRNS-vizsgálatokat végeztünk, és kifejezett, jellegzetes festődést, illetve expresszió-

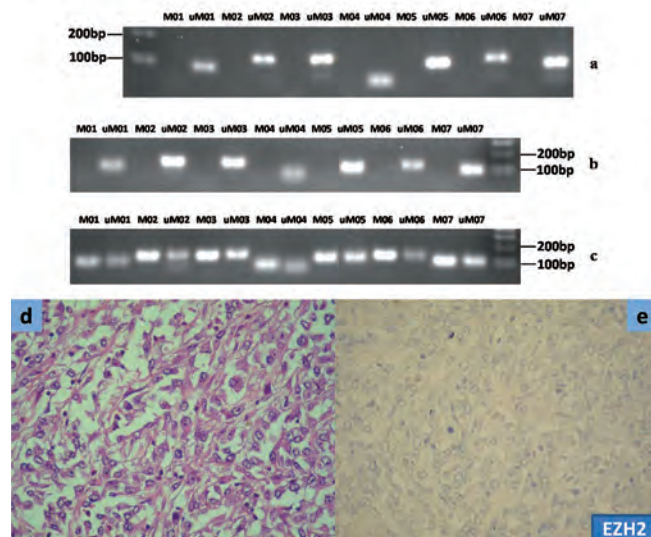
fokozódást találtunk a gyengén differenciált synovialis sarcoma szubtypusnál (16. ábra). Az EZH2-pozitivitás segít diagnosztizálni a néha pusztán morfológiai alapon nem egyértelmű, gyengén differenciált synovialis sarcoma szubtypust, valamint rosszabb prognózist jelez a jóval ritkábban előforduló mono- és bifázisos típusnál.

Az epithelioid sarcomák szintén a kutatásaink fókuszába kerültek azon érdekes, korábban mások által leírt megfigyelés miatt, hogy a SMARCB1/INI1 szuppresszor gén termékének hiánya az epithelioid sarcomák nagy részére jellemző, hasonlóan a rhabdoid tumorhoz, ugyanakkor, míg a rhabdoid tumorokban a hiánya biállélis genetikai károsodás miatt van, addig ez nem jellemző az epithelioid sarcomákra.

Kutatásunk célja az volt, hogy kiderítsük, milyen epigenetikai mechanizmusok felelősek ezért. Mintegy 30 epithelioid sarcoma vizsgálata során egyrészt igazolni tudtuk, hogy sem az INI1 gén promoter régiójának hipermetilációja, sem ugyanezen régió hiszton-hipermetilációja (EZH2) nem volt felelős a fehérjevesztésért (17. ábra), és posztranszlációs mechanizmusok se voltak igazolhatók (20). Mindez a figyelmünket a mikroRNS-ek szerepére terelte, és sikerült felfedezni és igazolni, hogy három onco-miR (miR 206, 381 és 671-5p) okozza a fehérjevesztést, amit funkcionális tesztekkel is igazoltunk (21) (18. ábra).

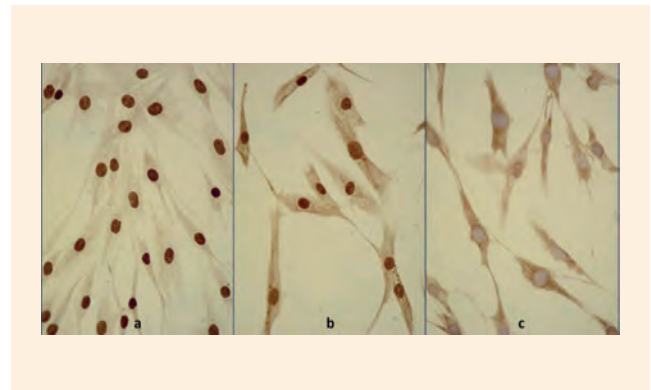
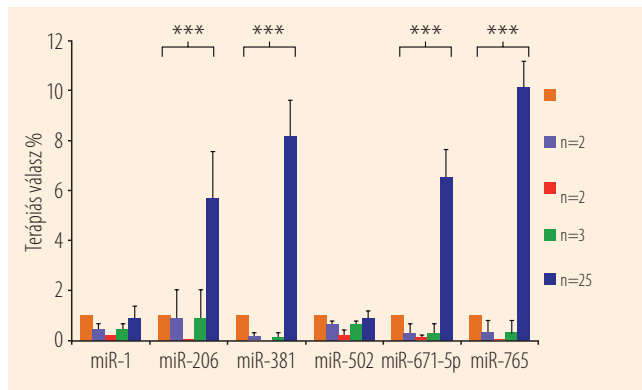
Összefoglalva, természetesen csupán néhány fontosabb szempontot vehettem figyelembe a lágyrészsarcomák tárgyalása során, rámutatva, hogy egy ritka, de diagnosztikai

**17. ábra.** A SMARCB1/INI1 gén promoterének metilációs specifikus PCR-je. A metilációs primerekben nincsenek csíkok (a). A b ábra a negatív és a c ábra a pozitív kontrollt mutatja. A d ábrán epithelioid sarcoma szöveti képe látható EZH2-negativitással (e)





**18. ábra.** A bal oldali diagram mutatja, hogy in silico 8 miR-t találtunk, melyek potenciálisan csendesíthetik az INI1 mRNS-t, de ezek közül csak négy (miR 206, 381, 671-5p és 765) mutatott szignifikáns emelkedést. Két miR normális szintet mutatott, további kettő pedig nem mutatott detektálható szintet (utóbbiakat az ábrán nem tüntettük fel). A jobb oldali ábra a funkcionális teszt eredményét mutatja, melyet fibroblast-sejttenyészetben végeztünk elektroporáció segítségével. Az a) ábrán normális fibroblastot látunk megtartott INI1-magpozitivitással, a b) ábrán kontroll miR-t vittünk be elektroporációval, és itt sincs változás, míg a c) ábra mutatja, hogy az elektroporációval bevitt miR 206 eredményesen csendesíti az INI1 mRNS-t, és ennek következményeként a magi fehérjepozitivitás megszűnt. A négy overexpresszált miR közül csak három, a miR 206, 381 és a 671-5p mutatott mRNS-csengesítést, a miR 765 funkcionálisan nem bizonyult aktívának



és terápiás kihívást jelentő daganatcsoportról, ezen belül számos daganatféleségről van szó, melyek diagnosztikája és kezelése igen nagy szakmai felkészültséget, egyfajta centralizálást és szoros klinikopatológiai együttműködést igényel.

## IRODALOM

1. Fletcher CDM, Bridge JA, Hogendoorn PCW, Mertens F. WHO Classification of Tumours of Soft Tissue and Bone. WHO, IARC Press, Lyon 2013
2. Schreiber-Facklam H, Bode-Lesniewska B, Frigerio S, Flury R. Primary monophasic synovial sarcoma of the duodenum with SYT/SSX2 type of translocation. *Hum Pathol* 38:946–949, 2007
3. Dei Tos AP, Dal Cin P. The role of cytogenetics in the classification of soft tissue tumours. *Virchows Arch* 431:83–94, 1997
4. Fletcher CD, Berman JJ, Corless C, et al. Diagnosis of gastrointestinal stromal tumors: A consensus approach. *Hum Pathol* 33:459–465, 2002
5. Sági Z, Antal I, Pápai Z, et al. Diagnosis of soft tissue tumors by fine-needle aspiration with combined cytopathology and ancillary techniques. *Diagn Cytopathol* 26:232–242, 2002
6. Coindre JM, Trojani M, Contesso G, et al. Reproducibility of a histopathologic grading system for adult soft tissue sarcoma. *Cancer* 58:306–309, 1986
7. Hornick JL, Dal Cin P, Fletcher CD. Loss of INI1 expression is characteristic of both conventional and proximal-type epithelioid sarcoma. *Am J Surg Pathol* 33:542–550, 2009
8. Gerald WL, Miller HK, Battifora H, et al. Intra-abdominal desmoplastic small round cell tumour. Report of 19 cases of a distinct type of high-grade polyphenotypic malignancy affecting young individuals. *Am J Surg Pathol* 15:499–513, 1991
9. Hemminger JA, Iwenofu OH. NY-ESO-1 is a sensitive and specific immunohistochemical marker for myxoid and round cell liposarcomas among related mesenchymal myxoid neoplasms. *Mod Pathol* 26:1204–1210, 2013

10. Nishio J, Iwasaki H, Nabeshima K, Naito M. Cytogenetics and molecular genetics of myxoid soft-tissue sarcomas. *Genet Res Int* 2011:497148, 2011

11. Mentzel T, Schärer L, Kazakov DV, Michal M. Myxoid dermatofibrosarcoma protuberans: clinicopathologic, immunohistochemical, and molecular analysis of eight cases. *Am J Dermatopathol* 29:443–448, 2007

12. Spinelli N, Khorassani N. Nodular fasciitis: an uncommon disease with common medical management challenges at a remote Naval Hospital. *Mil Med* 178:e1051–1054, 2013

13. Nucci MR, Drapkin R, Dal Cin P, et al. Distinctive cytogenetic profile in benign metastasizing leiomyoma: pathogenetic implications. *Am J Surg Pathol* 31:737–743, 2007

14. Dei Tos AP, Doglioni C, Piccinin S, et al. Coordinated expression and amplification of the MDM2, CDK4, and HMGI-C genes in atypical lipomatous tumours. *J Pathol* 190:531–536, 2000

15. Neuville A, Ranchère-Vince D, Dei Tos AP, et al. Impact of molecular analysis on the final sarcoma diagnosis: a study on 763 cases collected during a European epidemiological study. *Am J Surg Pathol* 37:1259–1268, 2013

16. Palmirotta R, De Marchis ML, Ludovici G, et al. Mutational analysis of gastrointestinal stromal tumors (GISTs): procedural approach for diagnostic purposes. *Cancer Genomics Proteomics* 10:115–123, 2013

17. Hruska A, Bollmann R, Kovács RB, et al. DNA ploidy and chromosome (FISH) pattern analysis of peripheral nerve sheath tumors. *Cell Oncol* 26:335–345, 2004

18. Sági Z, Füle T, Hajdu M, et al. The activated targets of mTOR signaling pathway are characteristic for PDGFRA mutant and wild-type rather than KIT mutant GISTs. *Diagn Mol Pathol* 20:22–33, 2011

19. Changchien YC, Tátrai P, Papp G, et al. Poorly differentiated synovial sarcoma is associated with high expression of enhancer of zeste homolog 2 (EZH2). *J Transl Med* Oct 10:216, 2012

20. Papp G, Changchien YC, Péterfia B, et al. SMARCB1 protein and mRNA loss is not caused by promoter and histone hypermethylation in epithelioid sarcoma. *Mod Pathol* 26:393–403, 2013

21. Papp G, Krausz T, Stricker TP, et al. SMARCB1 expression in epithelioid sarcoma is regulated by miR-206, miR-381, and miR-671-5p on both mRNA and protein levels. *Genes Chromosomes Cancer* 53:168–176, 2014