

АНАЛИЗ ХИМЕРНЫХ ОНКОГЕНОВ *SYT/SSX1* И *SYT/SSX2* ПРИ СИНОВИАЛЬНОЙ САРКОМЕ

© 2011 г. Т. В. Кекеева^{1,2*}, А. А. Рязанцева¹, Л. Э. Завалишина¹,
Ю. Ю. Андреева¹, О. В. Бабенко², Д. В. Залетаев², Г. А. Франк¹

¹Московский научно-исследовательский онкологический институт
им. П.А. Герцена Росмедтехнологий, Москва, 125284

²Научно-исследовательский институт молекулярной медицины Московской медицинской академии
им. И.М. Сеченова Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации, Москва, 119992

Поступила в редакцию 30.11.2010 г.

Принята к печати 02.02.2011 г.

Для синовиальной саркомы (СС) характерно наличие хромосомной транслокации $t(X;18)(p11;q11)$, в результате которой происходит слияние гена *SYT* с одним из генов – членов семейства *SSX*: *SSX1*, *SSX2* или *SSX4* – с образованием нового химерного онкогена *SYT/SSX*. Нами проведен анализ экспрессии химерных онкогенов *SYT/SSX1* и *SYT/SSX2* в образцах парафиновых блоков СС и сравнение диагностической значимости иммуногистохимического, цитогенетического и молекулярно-генетического методов выявления СС. Химерные транскрипты обнаружены в 12 из 16 случаев опухолей: семь химерных транскриптов *SYT/SSX1*, пять вариантов *SYT/SSX2*. Транслокация $t(X;18)(p11;q11)$ выявлена методом флуоресцентной гибридизации *in situ* (FISH) в 13 из 16 случаев. Полученные результаты свидетельствуют о том, что генетический анализ транслокаций $t(X;18)(p11;q11)$ и соответствующих химерных генов *SYT/SSX1* и *SYT/SSX2* представляет собой эффективный метод диагностики СС, чувствительность которого превосходит чувствительность методов с использованием иммуногистохимических маркеров.

Ключевые слова: синовиальная саркома, транслокация, химерный онкоген.

ANALYSIS OF *SYT/SSX1* AND *SYT/SSX2* FUSION GENES FROM SYNOVIAL SARCOMA, by T. V. Kekeeva^{1,2*}, A. A. Ryazantseva¹, L. E. Zavalishina¹, Y. Y. Andreeva¹, O. V. Babenko², D. V. Zaletaev², G. A. Frank¹ (¹Herzen Moscow Oncology Research Institute, Moscow, 125284 Russia; ²Institute of Molecular Medicine, Sechenov Moscow Medical Academy, Moscow, 119992 Russia, *e-mail: kekeeva@mail.ru). The $t(X;18)(p11;q11)$ translocation has been shown to be the specific alteration for synovial sarcomas. The translocation leads to production of chimeric protein *SYT/SSX* by fusion of *SYT* and *SSX* genes involved. The expression analysis of *SYT/SSX1* and *SYT/SSX2* chimeric transcripts was performed in formalin-fixed soft tissue tumour specimens and the diagnostic validity of immunohistochemistry, FISH and RT-PCR methods was compared. The chimeric transcripts were detected in 12 from 16 synovial sarcomas: 7 *SYT/SSX1* and 5 *SYT/SSX2* fusion variants; by fluorescence hybridization *in situ* (FISH) the translocation was found in 13 from 16 sarcoma samples. As synovial sarcoma represents a diagnostically challenging group, genetic analysis of translocations and chimeric transcripts is an extremely useful confirmatory diagnostic tool providing higher sensitivity than immunohistochemistry markers do.

Keywords: synovial sarcoma, translocation, fusion gene.

Синовиальная саркома (СС) – злокачественная опухоль мягких тканей, встречающаяся в 5–10% случаев сарком; локализуется преимущественно на конечностях, около крупных суставов, сухожилий, синовиальных сумок, реже – в области головы, шеи, на стенке живота или в любом из внутренних органов. Чаще встречается у мужчин, причем преимущественно в возрасте от 15 до 35 лет.

Тип клеток, из которых происходит СС, остается предметом дискуссий, хотя показано, что такие опухолевые клетки имеют признаки эпителиальной дифференцировки [1, 2]. Профиль экспрессии клеток СС сходен с таковым у стволовых клеток нервного гребня [3]. Возможность индукции экспериментальной модели СС в миобластах трансгенных мышей позволяет также предположить, что пред-

Принятые сокращения: FISH – флуоресцентная гибридизация *in situ*; СС – синовиальная саркома; БСС – бифазная СС; МСС – монофазная СС; ОЦК – общий цитокератин; ЭМА – эпителиальный мембранный антиген.

* Эл. почта: kekeeva@mail.ru

шественником могут быть незрелые миобласты [4]. В настоящее время принято считать, что СС происходит из мультипотентных стволовых клеток, которые способны дифференцироваться как в эпителиальном, так и в мезенхимальном направлении.

Гистологически выделяют бифазную и монофазную СС (БСС и МСС соответственно). Для БСС характерно сочетание веретенчатого и эпителиального компонента с формированием железистоподобных структур, в то время как МСС представлена только веретенчатой компонентом. Как и большинство других опухолей мягких тканей, диагностировать СС, опираясь исключительно на гистологические и клинические критерии, сложно. В некоторых случаях только сочетание нескольких методов исследования: на уровне ультраструктуры, иммуногистохимического и молекулярно-генетического анализа — дает возможность определить тип саркомы. Это особенно относится к МСС, дифференциальную диагностику которой проводят с фибросаркомой, лейомиосаркомой, злокачественной опухолью оболочек периферических нервов, злокачественной фиброзной гистиоцитомой. Такие иммуногистохимические маркеры, как эпителиальный мембранный антиген (ЭМА), общий цитокератин (ОЦК), CD99 и S100, не считаются специфичными для СС и встречаются в данной саркоме с частотой 90, 60, 60 и 30% соответственно.

В настоящее время единственной достоверной характеристикой СС считается хромосомная транслокация $t(X;18)(p11;q11)$, частота определения которой составляет 95–98% [5–8]. В результате транслокации происходит слияние гена *SYT* с одним из генов-членов семейства *SSX*: *SSX1*, *SSX2* или *SSX4* — с образованием нового химерного онкогена *SYT/SSX*, белковый продукт экспрессии которого, *SYT/SSX*, играет важную роль в формировании опухолевого фенотипа СС [9].

В данной работе представлены результаты впервые проведенного в России анализа экспрессии химерных онкогенов *SYT/SSX1* и *SYT/SSX2* в образцах парафиновых блоков СС с оценкой частоты характерных для СС изменений с использованием иммуногистохимических, цитогенетических и молекулярно-генетических методов.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

В работе использован операционный материал, полученный из патологоанатомического отделения Московского научно-исследовательского онкологического института им. П.А. Герцена, от 16 больных с диагнозом синовиальная саркома (12 БСС и 4 МСС) и 17 больных с другими опухолями мягких тканей (нейросаркома, фибросаркома, злокачественная фиброзная гистиоцитома, хондросаркома, злокачественная опухоль из оболочек перифе-

рических нервов, ангиосаркома, периваскулярная эпителиоидная опухоль, липома, хондрома, неклассифицируемые саркомы). Материал фиксировали 10%-ным раствором нейтрального формалина в течение 24 ч, обезжизивали, заливали в парафин. Готовили срезы толщиной 4–5 мкм, депарафинировали и окрашивали по стандартной методике гематоксилином и эозином.

РНК из парафиновых блоков выделяли с использованием набора “RNeasy FFPE Kit” (“Qiagen”, Германия) согласно протоколу фирмы-производителя. Обратную транскрипцию РНК проводили методом случайного праймирования с использованием High-Capacity cDNA Archive kit (“Applied Biosystems”, США) по протоколу фирмы-производителя в термоциклере (“ДНК-технология”, Россия) по следующей температурной схеме: 20 мин при 60°C, 120 мин при 37°C. Образцы кДНК хранили при температуре –20°C.

Целостность и количество выделенной РНК оценивали по экспрессии гена *GAPD*. Экспрессию химерных генов *SYT/SSX1* и *SYT/SSX2* анализировали с помощью праймеров, последовательность которых описана ранее [10]. ПЦР проводили по следующей схеме: к 0.1 мкг геномной ДНК добавляли 0.05 мкмоль каждого олигопраймера, 200 мкмоль каждого dNTPs, 1–2 ед. Taq-полимеразы, 5 мкл буфера для ПЦР следующего состава: 50 mM KCl, 10 mM Tris-HCl (pH 8.4), 5 mM MgCl₂. Затем добавляли 30 мкл вазелинового масла, прогревали смесь при 95°C в течение 10 мин и проводили 33 цикла по следующей программе: денатурация при 95°C в течение 30 с, отжиг и элонгация при 60°C в течение 2 мин 30 с. Продукты ПЦР разделяли электрофорезом в 6%-ном денатурирующем ПААГ, который затем окрашивали нитратом серебра. Секвенирование проводили по протоколам ABI Prism 310 Genetic Analyzer Kits (“Applied Biosystems”); для анализа хроматограмм секвенированных последовательностей использовали программы Chromas.

Компьютерный анализ кДНК проводили с использованием баз данных Blast и Blat.

Непосредственно перед проведением флуоресцентной гибридизации *in situ* (FISH) депарафинированные срезы инкубировали в течение 10 мин при 80°C в 1 М растворе NaSCN, затем в течение 15 мин при 37°C с протеазой (2500–3000 ед./мл) в 0.2 N растворе HCl (“Vysis”, США); после чего срезы дегидратировали и высушивали при комнатной температуре. На срезы наносили коммерческий зонд (“Vysis”) LSI SYT Dual Color Breakapart Probe (локус 12q13) и проводили гибридизацию по программе: денатурация при 73°C в течение 5 мин, гибридизация при 37°C в течение ночи. Срезы отмывали дважды в SSC (Na-цитратном буфере), pH 7.0, содержащем 0.1% Nonidet NP-40, при 73°C в течение 2 мин, затем высушивали на воздухе и заключали в среду с красителем DAPI. Детекцию проводили

Результаты иммуногистохимического, молекулярно-генетического (мРНК генов *GAPD* и *SYT/SSX*) и FISH анализов образцов синовиальных сарком

Номер	Возраст	Пол	Локализация	Тип	ИГХ-маркеры ^а	мРНК генов ^б		FISH ^б
						<i>GAPD</i>	<i>SYT/SSX</i>	
1	42	м	предплечье	БСС	ОЦК, S100	+	—	—
2	16	м	ротолотка	БСС	ЭМА, ОЦК	+	<i>SYT/SSX1</i>	+
3	60	м	кости таза	БСС	—	+	<i>SYT/SSX1</i>	+
4	36	ж	грудная клетка	БСС	S100	+	<i>SYT/SSX1</i>	+
5	22	ж	стопа	БСС	ЭМА, ОЦК	+	<i>SYT/SSX1</i>	+
6	50	ж	коленный сустав	БСС	ЭМА, ОЦК	+	<i>SYT/SSX1</i>	+
7	77	ж	голень	БСС	S100	+	—	+
8	24	м	коленный сустав	БСС	*	+	<i>SYT/SSX1</i>	+
9	29	ж	подколенная область	МСС	—	+	<i>SYT/SSX2</i>	—
10	23	ж	стопа	БСС	ЭМА	+	<i>SYT/SSX1</i>	—
11	34	м	забрюшинно	БСС	ОЦК	+	—	+
12	65	м	средостение	МСС	—	—	—	+
13	48	м	предплечье	БСС	ЭМА, CD99	+	<i>SYT/SSX2</i>	+
14	25	ж	локтевая ямка	БСС	ЭМА, ОЦК	+	<i>SYT/SSX2</i>	+
15	35	м	плечевой сустав	МСС	ЭМА, ОЦК, NSE, S100	+	<i>SYT/SSX2</i>	+
16	38	ж	мягкие ткани бедра	МСС	ЭМА, ОЦК	+	<i>SYT/SSX2</i>	+

^а Указаны положительные маркеры для каждого образца опухоли; “—” — отрицательный результат со всеми использованными маркерами.

^б “+” — положительный результат, “—” — отрицательный результат.

* — Исследование не проводилось.

с помощью флуоресцентного микроскопа таким образом: в 100 клетках, выбранных с различных полей одного и того же препарата, оценивали процентное соотношение отдельных (красных и зеленых) и “слитых” (желтых) меток во всех рассматриваемых клетках.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

У 8 из 16 больных с диагнозом СС опухоль располагалась на нижних конечностях, в остальных случаях — в области предплечья, локтевого сустава, таза, ротолотки, средостения, грудной клетки, паха и в забрюшинном пространстве.

Результаты иммуногистохимического, молекулярно-генетического и цитогенетического анализов приведены в таблице. Иммуногистохимические маркеры эпителиальной дифференцировки ОЦК и ЭМА были положительны в 10 из 15 случаев СС. Следует заметить, что реакцию считали положительной даже в том случае, если окрашивание детектировали в единичных опухолевых клетках (рис. 1). Как видно из таблицы, в опухолях СС обнаружена либо совместная экспрессия ОЦК и ЭМА, либо экспрессия только одного из маркеров.

Качество выделенной РНК оценивали по наличию экспрессии гена *GAPD*; по этому критерию

внутренний контроль был положительным в 15 из 16 анализируемых образцов. Химерные транскрипты обнаружены в 12 из 15 образцов опухолей: семь *SYT/SSX1* и пять *SYT/SSX2* (рис. 2а, б). Химерные гены имели стандартную точку разрыва. В трех образцах, негативных по результатам экспрессии *SYT/SSX*, методом FISH выявлено наличие СС-специфической транслокации t(X;18)(p11;q11). По всей видимости, это несоответствие в результатах, полученных на одних и тех же образцах разными методами, либо обусловлено наличием редких вариантов перестроек, которые приводят к образованию еще не охарактеризованных химерных генов, либо в данных образцах экспрессия химерных генов ингибирована.

Транслокация t(X;18)(p11;q11) обнаружена методом FISH в 13 из 16 исследованных образцов (рис. 3); однако в двух FISH-отрицательных опухолях показана экспрессия химерных генов, что подразумевает наличие транслокации. Скорее всего, ложноотрицательный результат FISH обусловлен погрешностями, допущенными при первичной обработке материала.

Следует заметить, что больному № 1 (табл.), в клетках опухоли которого не выявлено ни транслокации, ни соответствующего химерного гена, диагноз СС поставили на основании результатов мор-

фологического и иммуногистохимического (положительный ОЦК-маркер) анализов.

В качестве отрицательного контроля мы использовали 17 клинических образцов опухолей мягких тканей (нейросаркома, фибросаркома, злокачественная фиброзная гистиоцитома), морфологическая картина которых сходна с МСС. В этих опухолях не обнаружено ни транслокации $t(X;18)(p11;q11)$, ни продуктов экспрессии соответствующих химерных генов.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В большинстве случаев опухолей СС точки разрыва при транслокации расположены в интроне 10 гена *SYT* и интроне 4 гена *SSX*. Транскрипт образованного химерного гена включает в себя экзоны 1–10 гена *SYT* и экзоны 5 и 6 гена *SSX1* или *SSX2*. В этой работе исследованы варианты транскриптов *SYT*-экзон 10–экзон 5 *SSX1* или *SSX*. Ген *SYT* (18q11) кодирует белок, предположительно транскрипционный коактиватор, который экспрессируется во всех тканях. Белки семейства *SSX* (*Xp11*) обладают чрезвычайно высокой гомологией и считаются репрессорами транскрипции. В норме они экспрессируются только в яичках, т.е. в клетках зародышевой линии; вместе с тем, экспрессия *SSX* обнаружена в ряде таких опухолей, как гепатоцеллюлярная карцинома, меланома, опухоли головы и шеи, рак яичников и т.д. [11].

Злокачественный потенциал химерного белка *SYT/SSX* убедительно доказан на экспериментальных моделях [4, 12–14]. Трансформирующая активность химерного *SYT/SSX2* показана в экспериментах *in vivo*: при имплантации мышам клеточной культуры фибробластов 3Y1, трансформированных *SYT/SSX2*, у животных формировались опухоли, напоминающие СС.

Известно, что химерный белок содержит активационный домен *SYT*-белка – QPGY – и репрессорный домен белка *SSX* – SSXRD (рис. 4). Вопрос, какой именно домен вносит решающий вклад в онкогенное действие химеры, продолжает быть предметом дискуссий. Химерный белок *SYT/SSX* функционально представляет собой антагонист белка *Bmi1*, входящего в состав PcG-комплекса (Polycomb Group complex) [15, 16]. Барко (Barco) с соавт. [15] показали, что для связывания с *Bmi1* необходим SSXRD-домен, а это может указывать на его ключевую роль в составе *SYT/SSX*. Белки, входящие в состав PcG-комплекса, участвуют в процессах эпигенетической репрессии генов транскрипции посредством убиквитинилирования и гипоацетилирования гистонов, компактизации хроматина, метилирования ДНК и инактивации РНК-полимеразы. Высказывается мнение, что снижение функциональной активности PcG-комплекса снимает функциональную эпигенетическую

инактивацию онкогенов, приводя к их активации. Однако, очевидно, что формирование столь специфического фенотипа, как СС, должно сопровождаться конкретными изменениями в сигнальных каскадах опухолевых клеток-предшественников, а механизм малигнизации включает более строгие алгоритмы, чем активация онкогенов клетки вследствие общего дисбаланса метилирования. В дополнение к приведенной схеме активации, ряд авторов высказывает мысль, что онкобелок *SYT/SSX* способен запускать механизмы эпителиальной дифференцировки опухоли. В одном из исследований [17] получены результаты, подтверждающие снятие функционального ингибирования гена кадгерина *CDH1* посредством репрессии Snail- и Slug-обусловленной транскрипции. Следует заметить, что E-кадгерин – один из белков, играющих ключевую роль в механизме мезенхимально-эпителиальной транзиции, направляющей клетку по пути эпителиальной дифференцировки.

Известны наблюдения относительно различий клинических и гистологических характеристик СС в зависимости от присутствия конкретного варианта химерного гена [18]. В ретроспективном исследовании 243 больных показано, что практически во всех случаях БСС присутствует химера *SYT/SSX1* и, напротив, наличие *SYT/SSX2* ассоциировано с МСС ($p < 0.001$) [19]. Эти различия, по-видимому, обусловлены структурными особенностями С-концевой части каждого из соответствующих химерных белков, привносимыми генами *SSX1* или *SSX2*. В проанализированных нами образцах 78% опухолей БСС имели перестройку *SYT/SSX1* и только 22% – *SYT/SSX2*; в то время как в опухолях пациентов с МСС обнаружен только подтип *SYT/SSX2*. В работе [19] также показано, что у больных с локализованной формой СС наличие *SYT/SSX2* ассоциировано с более благоприятным прогнозом и лучшей выживаемостью; хотя Тэн Хьювел (Ten Heuvel) с соавт. на выборке из 45 человек никакой корреляции между вариантом химерного гена и выживаемостью не обнаружили [7].

Суммируя полученные результаты, можно сделать следующие выводы. В целом, оба варианта химерных транскриптов *SYT/SSX1* и *SYT/SSX2* обнаружены в 75% случаев СС (12 из 16), что хорошо совпадает с литературными данными: на материале как парафиновых блоков, так и свежезамороженных образцов, экспрессию *SYT/SSX* выявляют с частотой 59–77% [10, 19]. Заметим, что на территории России впервые проведен комплексный молекулярный анализ СС, включающий иммуногистохимическое, цитогенетическое и молекулярно-генетическое исследование опухолей. В совокупности чувствительность иммуногистохимических маркеров ЭМА и ОЦК составила 66%; в то время как чувствительность цитогенетического и молекулярно-генетического анализа соответствовала 81 и 75%, составив в совокупности 94%. Таким образом, од-

современное использование цитогенетического и молекулярно-генетического методов снижает вероятность ложноотрицательного результата на 28% по сравнению с использованием иммуногистохимических маркеров; кроме того, идентификация химерного варианта, *SYT/SSX1* или *SYT/SSX2*, дополнительно подтверждает морфологический тип СС.

К настоящему моменту молекулярная диагностика в онкологии представляет собой обширное поле научной деятельности и имеет принципиальное значение для клиники [20]. Так, в диагностике СС генетические методы успешно используются в других странах для подтверждения диагноза и в ряде случаев как единственно возможный способ установления диагноза.

Работа выполнена при финансовой поддержке ФЦП “Разработка новых диагностических технологий на основе новых механизмов эпигенетической регуляции” (Государственный контракт Министерства науки и образования Российской Федерации № 02.740.11.0089 от 15 июня 2009 года).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Fisher C. 1986. Synovial sarcoma: ultrastructural and immunohistochemical features of epithelial differentiation in monophasic and biphasic tumors. *Hum. Pathol.* **17**, 996–1008.
2. Smith T., Machen S., Fisher C., Goldblum J. 1999. Usefulness of cytokeratin subsets for distinguishing monophasic synovial sarcoma from malignant peripheral nerve sheath tumor. *Am. J. Clin. Pathol.* **112**, 641–648.
3. Ishibe T., Nakayama T., Aoyama T. et al. 2008. Neuronal differentiation of synovial sarcoma and its therapeutic application. *Clin. Orthop. Relat. Res.* **466**, 2147–2155.
4. Haldar M., Hancock J., Coffin C., et al. 2007. A conditional mouse model of synovial sarcoma: insights into a myogenic origin. *Cancer Cell.* **11**, 375–388.
5. Santos N., Bruijn D., Kessel G. 2001. Molecular mechanisms underlying human synovial sarcoma development. *Genes Chromosomes Cancer.* **30**, 1–14.
6. Sun B., Sun Y., Wang J., et al. 2008. The diagnostic value of SYT-SSX detected by reverse transcriptase-polymerase chain reaction (RT-PCR) and fluorescence in situ hybridization (FISH) for synovial sarcoma: a review and prospective study of 255 cases. *Cancer Sci.* **99**, 1355–1361.
7. Ten Heuvel S., Hoekstra H., Bastiaannet E., Suurmeijer A. 2009. The classic prognostic factors tumor stage, tumor size, and tumor grade are the strongest predictors of outcome in synovial sarcoma: no role for SSX fusion type or ezrin expression. *Appl. Immunohistochem. Mol. Morphol.* **17**, 189–195.
8. Ten Heuvel S., Hoekstra H., Suurmeijer A. 2008. Diagnostic accuracy of FISH and RT-PCR in 50 routinely processed synovial sarcomas. *Appl. Immunohistochem. Mol. Morphol.* **16**, 246–250.
9. Haldar M., Randall R.L., Capecchi M. 2008. Synovial sarcoma from genetics to genetic-based animal modeling. *Clin. Orthop. Relat. Res.* **466**, 2156–2167.
10. Thorson J., Weigelin H., Ruiz R., et al. 2006. Identification of SYT-SSX transcripts from synovial sarcomas using RT-multiplex PCR and capillary electrophoresis. *Modern Pathology.* **19**, 641–647.
11. Tureci O., Chen Y., Sahin U., et al. 1998. Expression of SSX genes in human tumors. *Int. J. Cancer.* **77**, 19–23.
12. Davis S., Meltzer P. 2007. Modeling Synovial Sarcoma: Timing is everything. *Cancer Cell.* **11**, 306–307.
13. Nagai M., Tanaka S., Tsuda M., et al. 2001. Analysis of transforming activity of human synovial sarcoma associated chimeric protein SYT-SSX1 bound to chromatin remodeling factor hBRM/hSNF2 alpha. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **98**, 3843–3848.
14. Peng C., Guo W., Yang Y., Zhao H. 2008. Downregulation of SS18-SSX1 expression by small interfering RNA inhibits growth and induces apoptosis in human synovial sarcoma cell line HS-SY-II *in vitro*. *Eur. J. Cancer Prev.* **17**, 392–398.
15. Barco R., Garcia C., Eid J. 2009. The synovial sarcoma-associated SYT-SSX2 oncogene antagonizes the polycomb complex protein Bmi1. *PLoS ONE.* **4**, e5060.
16. Bruijn D., Allander S., Dijk A., et al. 2006. The synovial sarcoma-associated SS18-SSX2 fusion protein induces epigenetic gene (de)regulation. *Cancer Res.* **66**, 9474–9482.
17. Saito T., Nagai M., Ladanyi M. 2006. SYT-SSX1 and SYT-SSX2 interfere with repression of E-cadherin by Snail and Slug: a potential mechanism for aberrant mesenchymal to epithelial transition in human synovial sarcoma. *Cancer Res.* **66**, 6919–6927.
18. Antonescu C., Kawai A., Leung D., et al. 2000. Strong association of SYT-SSX fusion type and morphologic epithelial differentiation in synovial sarcoma. *Diagn. Mol. Pathol.* **9**, 1–8.
19. Ladanyi M., Antonescu C., Leung D., et al. 2002. Impact of SYT-SSX type on the clinical behavior of synovial sarcoma: a multi-institutional retrospective study of 243 patients. *Cancer Res.* **62**, 135–140.
20. Залетаев Д.В. 2000. ДНК-диагностика в онкологии. *Молекуляр. биология.* **34**, 671–683.