

ในการศึกษาวิจัยนี้ได้เปรียบเทียบภาวะ Her-2 ในผู้ป่วยมะเร็งเต้านมชนิด Her-2 positive โดยเทคนิค 3 เทคนิคด้วยกันคือ Immunohistochemistry (IHC), Fluorescence In Situ Hybridization (FISH) และเทคนิคที่มีการค้นพบใหม่คือ Silver enhanced In Situ Hybridization (SISH) โดยตัวอย่างที่นำมาศึกษาครั้งนี้ได้รับการรับรองว่าเป็นมะเร็งเต้านมชนิดลุกลาม (invasive ductal carcinoma) เมื่อดูผลชิ้นเนื้อทางด้าน Histology โดยพยาธิแพทย์ และมีการ expressed ของโปรตีนชนิด Her-2 เมื่อดูผลโดย IHC ซึ่งประโยชน์จากการรู้ Her-2 status ในผู้ป่วยมะเร็งเต้านมชนิดนี้มีสำคัญอย่างมากในการให้การรักษา เนื่องจากปัจจุบันมะเร็งเต้านมชนิดนี้มียาที่ใช้รักษาที่มีประสิทธิภาพสูงคือ Herceptin<sup>®</sup> หรือ Trastuzumab โดยจะไปทำหน้าที่ยับยั้งการทำงานของโปรตีนชนิดนี้ ซึ่งถือว่าเป็นการรักษาแบบ Target Therapy แต่เนื่องจากค่ารักษามีราคาแพงมากดังนั้นการทราบถึง Her-2 status ที่ถูกต้องจึงจำเป็นอย่างยิ่งในการรักษาถ้าให้ยา รักษาโดยที่ไม่มีภาวะ Her-2 positive จะเป็นการเสียเงินโดยใช่เหตุและผลข้างเคียงจากการใช้ยาก็มีเช่นเป็นพิษต่อ กล้ามเนื้อหัวใจ ซึ่งพบว่าถ้าให้ร่วมกับ antracycline ผู้ป่วยจำนวนมากถึง 28% จะพัฒนาไปเป็นหัวใจล้มเหลว ดังนั้น การตรวจวัด Her2 status จึงมีความสำคัญทั้งในด้าน การพยากรณ์โรค และการเลือกแนวทางการรักษา

จากการศึกษาพบว่า เมื่อนำผู้ป่วยมะเร็งเต้านมชนิด Her-2 positive จำนวน 52 ราย ซึ่งมี Her-2 positive 2+ จำนวน 27 ราย และ 3+ จำนวน 25 ราย มาข้อมูซ้ำ ผลปรากฏว่ามี Her-2 positive ชนิด 2+ จำนวน 30 รายและ 3+ จำนวน 22 ราย โดยตัวอย่างที่นำมาข้อมูใหม่แล้วมี score เปลี่ยนไปจำนวน 7 ราย โดย score เพิ่มขึ้นจาก 2+ เป็น 3+ มี 2 ราย และ score ลดลงจาก 3+ เป็น 2+ มี 5 ราย และเมื่อนำผลการข้อมูทั้ง 2 ครั้งมาหาค่า agreement พบว่าการข้อมูทั้ง 2 มีความสอดคล้องกันในระดับที่ใช้แทนกันได้โดยค่า concordance rate = 84.61% ( $k=0.729$ ) และเมื่อนำมาหา Her-2 gene amplification พบว่าทุกรายที่ Her-2/neu gene amplification โดยเทคนิค FISH (จำนวน 39 ราย) จะเป็น Her-2/neu gene amplification เช่นกันเมื่อดูผลจากการเทคนิค SISH และพบว่า มีจำนวน 4 รายที่ Her-2/neu gene amplification ด้วยเทคนิค SISH แต่กลายเป็น Her-2/neu gene non-amplification ด้วยเทคนิค FISH นอกจากนี้ ratio of Her-2/neu gene / CEP17 ที่ได้จากเทคนิค SISH ยังค่อนข้างสูงกว่า ratio ที่ได้จากเทคนิค FISH และเมื่อนำ 2 เทคนิคนี้ มาหาค่า agreement พบความสอดคล้องกันระหว่าง 2 เทคนิคนี้คือ 39 รายใน 43 ราย มีค่า concordance rate = 90.69% ( $k=0.771$ ) และเมื่อนำค่า ratio ของทั้ง 2 เทคนิคมาหาค่าความสัมพันธ์ พบว่ามีค่าความสัมพันธ์ปานกลาง โดยมีค่า  $R=0.567$  เมื่อเปรียบเทียบค่า agreement ของ Her-2 protein expressed (repeated study) กับ Her-2/neu gene amplification จากเทคนิค SISH พบว่ามีความสอดคล้องกันของ 2 เทคนิคนี้ โดยมีค่า concordance rate เท่ากับ 82.69% ( $k=0.266$ ) ส่วนความสอดคล้องกันของ IHC กับ FISH เมื่อดูผลจาก repeated study เท่ากับ 56.66% ( $k=0.393$ ) ซึ่งค่อนข้างต่ำ

จากผลการทดลองนี้ กลุ่มผู้วิจัยพบค่า Concordance ระหว่าง 2 เทคนิค (SISH vs FISH) ค่อนข้างต่ำกว่าผลการทดลองของกลุ่มศึกษาอื่นๆ ซึ่งโดยส่วนใหญ่พบค่ามากกว่า 95% แต่อย่างไรก็ตามถ้าดูจากจำนวนตัวอย่างที่ตรวจวัด

ด้วยเทคนิค FISH ที่ Her-2/neu gene amplification ทุกรายจะพบว่า เมื่อตรวจวัดด้วยเทคนิค SISH จะให้ผลไปในแนวทางเดียวกันหมด คือ Her-2/neu gene amplification

ในการศึกษาครั้งนี้พบว่าเมื่อเราเปรียบเทียบผลของ Her-2 protein expression ซึ่งศึกษาด้วยเทคนิค IHC กับผลของ Her-2/neu gene amplification ซึ่งศึกษาด้วยเทคนิค FISH และเทคนิค SISH ค่า concordance rate ที่ได้แม้จะค่อนข้างสูงในภาพรวม ส่วนค่า kappa ที่ได้ค่อนข้างต่ำ (75%,  $k=0.393$  และ 82.69%,  $k=0.266$  ตามลำดับ) แต่เมื่อดูในผู้ป่วยรายที่เป็น Her-2 protein equivocal expressed (2+) กลับพบว่าทั้งค่า concordance rate และค่า kappa ที่ได้จะค่อนข้างต่ำ (56.66%,  $k=0.393$  และ 70.0%,  $k=0.266$  ตามลำดับ) ทั้งนี้อาจเป็นเพราะว่าการศึกษาในระดับ protein expression ในชั้นเนื้อที่ตรึงด้วยฟอร์มาลินมีปัจจัยหลายอย่างมีผลต่อความคงอยู่ของโปรตีนนั้นๆ เช่น ฟอร์มาลิน ซึ่งเป็น cross-linking fixative จะทำให้เกิดการจับตัวกัน (bridging) ระหว่าง amino acid ภายในโมเลกุลเดียวกันและจับตัวกับโมเลกุลที่อยู่ข้างเคียงกันของโปรตีน ขบวนการนี้เป็นสาเหตุที่สำคัญที่เชื่อว่าเป็นตัวการในการ block ไม่ให้ antibody เข้าไปจับตัวกับ antigen determinant (epitope) ได้ ขบวนการนี้เรียกว่า masking of antigen นอกจากนี้ชนิดและเวลาของการแช่ชิ้นเนื้อก็มีผลเช่นเดียวกัน ดังนั้นในขั้นตอนการ unmask antigen จึงจำเป็นสำหรับงานทางด้านเทคนิค IHC ซึ่งจะไปมีผลต่อการแปลผลของ Her-2 protein status ในผู้ป่วยมะเร็งเต้านมชนิด Her-2 positive ได้ แต่จะสังเกตเห็นว่าในกรณีผู้ป่วยที่เป็นชนิด Her-2 protein highly expressed พบว่า จะเป็น Her-2/neu gene amplification ทุกราย กล่าวโดยสรุปจากการวิจัยครั้งนี้ได้ว่า SISH เป็นอีกเทคนิคหนึ่งที่สามารถนำมาใช้ในการตรวจวิเคราะห์หาภาวะ Her-2 gene ในผู้ป่วยมะเร็งเต้านมร่วมกับกับเทคนิค IHC และ FISH แต่ถ้าจะนำมาใช้แทนที่เทคนิค FISH ควรมีการเพิ่มจำนวนตัวอย่างผู้ป่วยชนิด Her-2 protein equivocal expressed ให้มากกว่านี้และเมื่อตรวจภาวะ Her-2 protein ด้วยเทคนิค IHC แล้วได้ผล score=2+ ขอแนะนำให้ตรวจวัดภาวะ Her-2/neu gene ด้วยเทคนิค FISH หรือ SISH ก่อนที่จะทำการรักษาผู้ป่วยต่อไป