

# ความสอดคล้องกันของ Immunohistochemistry กับ In situ hybridization ในการประเมินสถานะตัวรับ Human Epidermal Growth Factor Receptor 2 ของผู้ป่วยมะเร็งเต้านม ในโรงพยาบาลสวรรค์ประชารักษ์

## Concordance of Immunohistochemistry and In Situ Hybridization for Assessment of Human Epidermal Growth Factor Receptor 2 Status in Breast Cancer Patients in Sawanpracharak Hospitaler Patients in Sawanpracharak Hospital

ธนากร ยาอินทร์, พ.บ.

Tanakorn Ya-in, M.D.

### Abstract

**Objective :** To investigate the concordance between immunohistochemistry (IHC) and in situ hybridization (ISH) for HER2 status and to evaluate the correlation in clinicopathological characteristics in breast cancer patients.

**Methods :** This study was a retrospective study enrolled breast cancer patients of Sawanpracharak Hospital who had IHC (2+ and 3+) and ISH results between January 2018 to October 2021. The HER2 status of invasive ductal breast cancer from 128 cases was determined. The Concordance between IHC and ISH and the correlation between HER2 ISH and their clinicopathological characteristics were evaluated using a rank sum test and exact probability at a 95% confidence interval.

**Results :** Total concordance was 79.7% with a Kappa

coefficient of 0.485 ( $p < 0.001$ ). The concordance was detected at 97.4% with IHC 3+ and 52.9% with IHC 2+. There was no significant correlation between HER2, ISH, and the patient's age, tumor size, tumor side, or histologic grade

**Conclusion :** Our study showed a high concordance rate between IHC 3+ and ISH. Regarding the results, IHC 3+ breast cancer patients could be treated with targeted therapy without ISH confirmation to decrease waiting time and cost. Further ISH study should be limited to IHC 2+.

**Keywords :** HER2 status, Immunohistochemistry, In situ hybridization, concordance

### บทคัดย่อ

**วัตถุประสงค์ :** เพื่อศึกษาความสอดคล้องกันของผลการย้อม Human Epidermal Growth Factor Receptor 2 (HER2) ด้วยวิธี Immunohistochemistry (IHC) กับ In situ hybridization (ISH) และศึกษาความสัมพันธ์ระหว่าง HER2 ISH กับลักษณะทางพยาธิวิทยาทางคลินิกของผู้ป่วยมะเร็งเต้านม

**วิธีการศึกษา :** ทำการวิจัยแบบศึกษาย้อนหลังเชิงพรรณนา (retrospective descriptive research) ที่กลุ่มงานพยาธิวิทยาวิทยาภาควิชา โรงพยาบาลสวรรค์ประชารักษ์ กลุ่มตัวอย่างคือผู้ป่วยมะเร็งเต้านมที่ได้รับการตรวจ HER2 ด้วยวิธี IHC ที่มีผลเป็น 2+ และ 3+ และได้รับการตรวจยืนยันด้วยวิธี ISH ระหว่างเดือน มกราคม 2561 ถึงเดือนตุลาคม 2564 จำนวนความสัมพันธ์ระหว่างผล HER2 ISH กับลักษณะทางพยาธิ

วันที่รับ (received) 16 สิงหาคม 2565

วันที่แก้ไขเสร็จ (revised) 20 พฤศจิกายน 2565

วันที่ตอบรับ (accepted) 8 ธันวาคม 2565

Published online ahead of print 15 ธันวาคม 2565

กลุ่มงานพยาธิวิทยาภาควิชา โรงพยาบาลสวรรค์ประชารักษ์ จังหวัดนครสวรรค์  
Department of Anatomical Pathology Sawanpracharak Hospital

Corresponding Author: ธนากร ยาอินทร์

กลุ่มงานพยาธิวิทยาภาควิชา โรงพยาบาลสวรรค์ประชารักษ์ จังหวัดนครสวรรค์  
Email:tanypui@gmail.com

doi: .....

วิทยาทางคลินิกของผู้ป่วย ด้วยสถิติ rank sum test และ exact probability test ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95

**ผลการศึกษา :** ผลการตรวจ HER2 ด้วยวิธี IHC กับผลการตรวจยืนยันด้วยวิธี ISH มีความสอดคล้องร้อยละ 79.9 มีความสอดคล้องอยู่ในเกณฑ์ดี (kappa coefficient = 0.485,  $p < 0.001$ ) โดยผลตรวจ IHC 3+ มีความสอดคล้องกับผลตรวจ ISH ร้อยละ 97.4 ผลตรวจ IHC 2+ มีความสอดคล้องกับผลตรวจ ISH ร้อยละ 52.9 ไม่พบความสัมพันธ์ระหว่าง ผลตรวจ HER2 ISH กับอายุ ขนาดก้อนมะเร็ง ตำแหน่งก้อนมะเร็ง และระดับจุลกายวิภาคของเนื้อเยื่อมะเร็ง (histologic grade)

**สรุป :** การตรวจ HER2 ด้วยวิธี IHC ที่มีผลเป็น 3+ มีความสอดคล้องกับการตรวจด้วยวิธี ISH สูงมาก จึงอาจพิจารณาให้ยาต้านยีนก่อนมะเร็งโดยไม่ต้องรอผลตรวจยืนยัน ระยะเวลาการรอคอย ทำให้การรักษาทำได้รวดเร็วและลดค่าใช้จ่ายได้ ส่วนการตรวจ IHC ที่มีผลเป็น 2+ มีความจำเป็นต้องตรวจยืนยันด้วยวิธี ISH ทุกรายก่อนพิจารณาให้ยาต้านยีนก่อนมะเร็ง

**คำสำคัญ :** สถานะตัวรับ HER2, Immunohistochemistry, In situ hybridization, ความสอดคล้อง

## บทนำ

มะเร็งเต้านมเป็นมะเร็งที่พบมากที่สุดในโลก รวมทั้งประเทศไทย และมีแนวโน้มอุบัติการณ์ของผู้ป่วยรายใหม่เพิ่มจำนวนขึ้นทุกปี จากรายงานทางระบาดวิทยาพบอุบัติการณ์การเกิดผู้ป่วยรายใหม่และอัตราการตายของผู้หญิงทั่วโลกประมาณ 47.8 และ 13.6 ตามลำดับต่อประชากรผู้หญิง 100,000 ราย<sup>1</sup> ในขณะที่ประเทศไทยพบอุบัติการณ์การเกิดผู้ป่วยมะเร็งเต้านมรายใหม่ในช่วงปี 2563 ประมาณ 37.8 ต่อประชากรผู้หญิงไทย 100,000 ราย<sup>1</sup> การรักษามะเร็งเต้านมในปัจจุบันมีหลายวิธี โดยรวมจะเป็นการรักษาโรคแบบผสมผสานระหว่าง การรักษาเฉพาะที่ (local treatment) และการรักษาที่มีผลทั่วร่างกาย (systemic treatment) ขึ้นกับระยะของโรค ซึ่งประกอบไปด้วย การผ่าตัด การใช้รังสีรักษา การรักษาด้วยยาเคมีบำบัด การรักษาเสริมด้วยยาต้านฮอร์โมน (Hormonal therapy) และการรักษาเสริมด้วยยาต้านยีนก่อนมะเร็ง (Targeted therapy)

การรักษาเสริมด้วยยาต้านยีนก่อนมะเร็ง ได้มีบทบาทในการใช้รักษาผู้ป่วยมะเร็งเต้านมที่มีผลการตรวจพบยีนก่อนมะเร็ง คือ Human Epidermal Growth Factor Receptor 2 (HER2) ซึ่งต้องตรวจเบื้องต้นด้วยวิธี Immunohistochemistry (IHC) ในกรณีผลตรวจ IHC จากชิ้นเนื้อมะเร็งเป็น 2+ (equivocal) หรือ 3+ (positive) ต้องตรวจยืนยันทุกครั้งด้วยวิธี In situ hybridization (ISH) ซึ่งเป็นวิธีมาตรฐาน (gold standard) ก่อนให้ยารักษาทุกราย สำหรับผู้ป่วยมะเร็งเต้านมทุกรายที่มีผล HER2 ด้วยวิธี ISH เป็นบวก ผู้ป่วยจะได้รับการพิจารณา

การรักษาด้วยยาต้านยีนก่อนมะเร็ง ซึ่งทำให้ผู้ป่วยมะเร็งเต้านมมีอัตราการดำรงชีพที่ยืนยาวขึ้น และมีคุณภาพชีวิตที่ดีขึ้น<sup>2,3</sup> ดังนั้นการประเมินสถานะตัวรับ HER2 ด้วย IHC เบื้องต้นโดยพยาธิแพทย์ และกระบวนการย้อมที่ถูกต้องแม่นยำจะเป็นผลดีต่อผู้ป่วยมะเร็งเต้านม

กลุ่มงานพยาธิวิทยาภาค โรงพยาบาลสวรรค์ประชารักษ์เปิดให้บริการตรวจสถานะตัวรับ HER2 ในชิ้นเนื้อมะเร็งเต้านมด้วยวิธี IHC โดยใช้เกณฑ์การรายงานผลของ ASCO/CAP (American Society of Clinical Oncology and the College of American Pathologists) ปี 2018 กรณีผลตรวจเป็น 2+ (equivocal) และ 3+ (positive) จะส่งตรวจต่อห้องปฏิบัติการพยาธิวิทยาเอกชนเพื่อยืนยันโดยวิธี ISH ที่เป็นวิธีมาตรฐานของการตรวจสถานะตัวรับ HER2 ซึ่งปริมาณการส่งตรวจ HER2 IHC ในโรงพยาบาลสวรรค์ประชารักษ์มีมากขึ้นและมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นทุกปี เนื่องจากกลุ่มงานพยาธิวิทยาภาคยังไม่เปิดบริการตรวจ ISH จึงจำเป็นต้องส่งชิ้นเนื้อมะเร็งเต้านมที่มีผล HER2 IHC เป็น 2+ หรือ 3+ ไปตรวจ HER2 ISH ที่ห้องปฏิบัติการพยาธิวิทยาเอกชน ซึ่งบางครั้งได้ผลตรวจค่อนข้างช้า และอาจมีผลต่อการรักษาผู้ป่วยมะเร็งเต้านม จึงศึกษาเปรียบเทียบผลการตรวจ HER2 ด้วยการตรวจแบบ IHC ที่สามารถทำได้ในโรงพยาบาลสวรรค์ประชารักษ์ กับการตรวจแบบ ISH ที่ส่งตรวจในห้องปฏิบัติการพยาธิวิทยาเอกชน เพื่อดูว่าผลการตรวจสถานะตัวรับ HER2 ด้วยวิธี IHC และ ISH มีความสอดคล้องกันหรือไม่ หากผลการศึกษาพบว่ามีความสอดคล้องกันหรือมีความถูกต้องแม่นยำในการประเมินสถานะตัวรับ HER2 จากการย้อม IHC จะเป็นข้อได้เปรียบที่นำไปใช้ในการพิจารณาแนวทางการรักษาผู้ป่วยมะเร็งเต้านมได้ในอนาคต และทำให้เริ่มรักษาเสริมด้วยยาต้านยีนก่อนมะเร็งได้เร็วขึ้น อีกทั้งยังลดค่าใช้จ่ายในการตรวจด้วยวิธี ISH ที่มีค่าใช้จ่ายค่อนข้างสูง และทำได้ในบางสถาบันการศึกษาหรือห้องปฏิบัติการพยาธิวิทยาเอกชนบางแห่งเท่านั้น การศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์ เพื่อศึกษาความสอดคล้องกันของผลการย้อม HER2 ด้วยวิธี IHC กับ ISH จากชิ้นเนื้อของผู้ป่วยมะเร็งเต้านม รวมถึงทดสอบความสัมพันธ์ระหว่างผล HER2 ISH กับลักษณะทางพยาธิวิทยาทางคลินิกของผู้ป่วยด้วย

## วิธีการศึกษา

การศึกษานี้ดำเนินการในกลุ่มงานพยาธิวิทยาภาค โรงพยาบาลสวรรค์ประชารักษ์ ซึ่งได้รับการรับรองจริยธรรมการวิจัยในคนจากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในคน โรงพยาบาลสวรรค์ประชารักษ์ ตามหนังสืออนุมัติเลขที่ 47/2564 ทำการวิจัยแบบศึกษาย้อนหลังเชิงพรรณนา (retrospective descriptive research) กลุ่มประชากรที่ศึกษาเป็นผู้ป่วย

มะเร็งเต้านม ที่ส่งตรวจสถานะตัวรับ HER2 ที่กลุ่มงานพยาธิวิทยาภาควิชา ระหว่างเดือน มกราคม 2561 ถึงเดือนตุลาคม 2564 จำนวน 128 ราย เหตุผลในการเลือกกลุ่มตัวอย่างในการวิจัยโดยการคำนวณขนาดกลุ่มตัวอย่างทางสถิติด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป โดยกำหนดค่าทางสถิติ คือ  $\alpha = 0.05$  (two-sided),  $\text{power} = 0.9$  (90%),  $\delta = -0.1$  และ alternative  $p = 0.8$  ได้จำนวนประชากรที่ต้องใช้ในการศึกษาอย่างน้อย 122 ราย โดยคัดเลือกทุกคนที่เข้าตามเกณฑ์คัดเข้า โดยมีเกณฑ์คัดเข้า (inclusion criteria) คือ เป็นเพศหญิง ผลชิ้นเนื้อเต้านมเป็นชนิด Invasive ductal carcinoma และมีผลตรวจ HER2 IHC จากชิ้นเนื้อเต้านม เป็น 2+ หรือ 3+ และมีผลการตรวจ HER ISH ยืนยัน ได้กลุ่มตัวอย่างที่นำมาศึกษาวิจัยครั้งนี้ตามเกณฑ์คัดเข้า ระหว่างเดือน มกราคม 2561 ถึงเดือนตุลาคม 2564 ทั้งหมด จำนวน 128 ราย

เก็บข้อมูลกลุ่มตัวอย่างผู้ป่วยมะเร็งเต้านมในโรงพยาบาล สวรรค์ประชารักษ์ จากเวชระเบียนผู้ป่วย และผลพยาธิวิทยา ได้แก่ อายุของผู้ป่วย (Age) ขนาดของก้อนมะเร็ง (Tumor size) ตำแหน่งของก้อนมะเร็ง (Side of tumor) ระดับจุลกายวิภาคของเนื้อเยื่อมะเร็ง (Tumor histologic grade) และผลย้อมสถานะตัวรับ HER2 ด้วยวิธี IHC (2+ หรือ 3+) และ ISH (บวก หรือ ลบ) การศึกษาเพื่อประเมินความสอดคล้อง (concordance) และทดสอบความสัมพันธ์ของการย้อมสถานะตัวรับ HER2 ด้วยวิธี IHC กับวิธี ISH ประเมินจากสถิติ kappa coefficient การศึกษาเปรียบเทียบลักษณะกลุ่มตัวอย่างกับผลการย้อมสถานะตัวรับ HER2 ด้วยวิธี ISH ด้วยสถิติ rank sum test และ exact

ตารางที่ 1 เปรียบเทียบผลการตรวจสถานะตัวรับ HER2 ด้วยวิธี IHC และ ISH

IHC scoring	HER2/ISH n (%)		% Concordance by IHC	% Discordance by IHC	Kappa coefficient	p-value
	Positive	Negative				
3+ (n=77)	75 (73.5)	2 (7.7)	97.4 (75/77)	2.6 (2/77)	0.485	<0.001
2+ (n=51)	27 (26.5)	24 (92.3)	52.9 (27/51)	47.1 (24/51)		

ลักษณะทางพยาธิวิทยาคลินิก (ตารางที่ 2) เป็นผู้ป่วยมะเร็งเต้านมที่ได้รับการตรวจยืนยันสถานะตัวรับ HER2 ด้วยวิธี ISH มีอายุระหว่าง 26 - 83 ปี มีอายุเฉลี่ย  $55.8 \pm 11.6$  ปี และผู้ป่วยอายุมากกว่า 50 ปี มีผลตรวจยืนยันสถานะตัวรับ HER2 ด้วยวิธี ISH เป็นบวกมากกว่ากลุ่มผู้ป่วยที่มีอายุตั้งแต่ 50 ปีลงไปถึง 2 เท่า แต่ไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างผลการตรวจ HER2 ISH กับอายุผู้ป่วยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p=0.46$ )

ขนาดก้อนมะเร็งของผู้ป่วย (ตารางที่ 2) มีขนาดเล็กที่สุด 1.2 เซนติเมตร และก้อนใหญ่ที่สุด 13.0 เซนติเมตร มีขนาดเฉลี่ย  $4.0 \pm 2.2$  เซนติเมตร ขนาดก้อนมะเร็งส่วนใหญ่ร้อยละ 85.2

probability test ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95 การแปลผล Kappa coefficient ใช้แนวทางของ Fleiss Levin and Paik<sup>4</sup> คือ

Kappa coefficient	ระดับความสอดคล้อง
0.75 – 1.00	ความสอดคล้องดีมาก
0.40 – 0.74	ความสอดคล้องดี
0.00 – 0.39	ความสอดคล้องต่ำ

**ผลการศึกษา**

การประเมินสถานะตัวรับ HER2 ของผู้ป่วยมะเร็งเต้านม โรงพยาบาลสวรรค์ประชารักษ์ระหว่างปี 2561 ถึง 2564 ในชิ้นเนื้อมะเร็งเต้านมจำนวน 128 ราย ผลตรวจ IHC เป็น 2+ และ 3+ ซึ่งได้รับการตรวจยืนยันด้วยวิธี ISH มีผลบวกร้อยละ 26.5 (27/102) และ 73.5 (75/102) ตามลำดับ ความสอดคล้องของสถานะตัวรับ HER2 ของชิ้นเนื้อมะเร็งเต้านมระหว่าง IHC กับ ISH (ตารางที่ 1) มีความสอดคล้องร้อยละ 79.7 (102/128) มีค่า kappa coefficient เท่ากับ 0.485 ( $p<0.001$ ) มีระดับความสอดคล้องอยู่ในเกณฑ์ดี โดยชิ้นเนื้อมะเร็งเต้านมที่มีผล IHC 3+ มีความสอดคล้องกับผลการตรวจด้วยวิธี ISH ร้อยละ 97.4 (75/77) ส่วนชิ้นเนื้อมะเร็งเต้านมที่มีผล IHC 2+ มีความสอดคล้องกับผลการตรวจด้วยวิธี ISH ร้อยละ 52.9 (27/51) ความคลาดเคลื่อนที่พบของการตรวจ IHC ทั้งหมดเป็นแบบบวกสูง โดยพบความคลาดเคลื่อนของการตรวจยืนยันด้วย ISH จากกลุ่มที่มี IHC 2+ ร้อยละ 47.1 (24/51) ส่วนจากกลุ่ม IHC 3+ พบร้อยละ 2.6 (2/77)

มีขนาดมากกว่า 2.0 เซนติเมตร ผลการตรวจ HER2 ด้วยวิธี ISH มีทิศทางไม่สัมพันธ์กับขนาดของก้อนมะเร็ง ( $p=0.39$ )

ตำแหน่งของก้อนมะเร็ง (ตารางที่ 2) พบอยู่ข้างขวา คิดเป็นร้อยละ 53.9 ข้างซ้ายร้อยละ 44.1 ไม่พบความสัมพันธ์กันทางสถิติระหว่างผลตรวจ HER2 ISH กับตำแหน่งของก้อนมะเร็งอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p=0.25$ )

ระดับของจุลกายวิภาคของเนื้อเยื่อมะเร็ง (ตารางที่ 2) ระดับ 2 และ 3 คิดเป็นร้อยละ 57.8 และ 42.2 ตามลำดับ พบผลลบในผู้ป่วยที่มีระดับของจุลกายวิภาคของเนื้อเยื่อมะเร็ง ระดับ 2 มากกว่าระดับ 3 1.6 เท่า แต่ไม่พบความสัมพันธ์ทางสถิติ ( $p=0.42$ )

ตารางที่ 2 ความสัมพันธ์ระหว่างผลตรวจ HER2 ISH กับลักษณะทางพยาธิวิทยาคลินิกของผู้ป่วย

Variable	Total n (%)	HER2/ISH		p-value
		Positive (n=102)	Negative (n=26)	
Age (year)				
≤ 50	43 (33.6)	35 (34.3)	8 (30.8)	0.46
> 50	85 (66.4)	67 (65.7)	18 (69.2)	
$\bar{x}$ (SD)	55.8 (11.6)			
min - max	26 - 83			
Tumor size (cm.)				
≤ 2	19 (14.8)	15 (14.7)	4 (15.4)	0.39
2.1 - 5	81 (63.3)	62 (60.8)	19 (73.1)	
> 5	28 (21.9)	25 (24.5)	3 (11.5)	
$\bar{x}$ (SD)	4 (2.2)			
min - max	1.2 - 13			
Side				
Right	69 (53.9)	57 (55.9)	12 (46.2)	0.25
Left	59 (46.1)	45 (44.1)	14 (53.8)	
Histologic grade				
2	74 (57.8)	58 (56.9)	16 (61.5)	0.42
3	54 (42.2)	44 (43.1)	10 (38.5)	

## วิจารณ์

ผู้ป่วยมะเร็งเต้านมที่มีผลสถานะตัวรับ HER2 ด้วยวิธี IHC เป็น 2+ และ 3+ และได้รับการตรวจยืนยันด้วยวิธี ISH ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2561 ถึง 2564 มีจำนวน 128 ราย มีความสอดคล้องกันค่อนข้างสูงถึงร้อยละ 79.7 มีผลการประเมินความสอดคล้องในระดับดี มีค่า kappa coefficient เท่ากับ 0.485 ( $p < 0.001$ ) ใกล้เคียงกับรายงานการศึกษาอื่นที่มีลักษณะเดียวกัน ที่รายงานความสอดคล้องไว้ระหว่างร้อยละ 78.6-82.0 และมีค่า kappa coefficient อยู่ระหว่าง 0.64-0.76 ( $p < 0.001$ )<sup>5,6</sup> ซึ่งมีความสอดคล้องอยู่ในระดับดีเช่นกัน มีเพียงการศึกษาเดียวที่มีความสอดคล้องค่อนข้างต่ำเพียงร้อยละ 54.6 มีค่า kappa coefficient เท่ากับ 0.189 ( $p = 0.000$ )<sup>7</sup> แสดงให้เห็นว่าการตรวจสถานะตัวรับ HER2 ด้วยวิธี IHC ของโรงพยาบาลสวรรค์ประชารักษ์มีความถูกต้อง แม่นยำสูง มีเกณฑ์อยู่ในระดับดีและยอมรับได้

ผลการตรวจสถานะตัวรับ HER2 3 ใน 4 (75/128 หรือ ร้อยละ 73.5) มีผลการตรวจด้วยวิธี IHC เป็น 3+ ซึ่งมีความสอดคล้องกับผลการตรวจ ISH สูงมากถึงร้อยละ 97.4 และยังมีระดับความสอดคล้องสูงกว่าการศึกษาอื่นที่มีลักษณะ

เดียวกัน โดยรายงานความสอดคล้องไว้ที่ร้อยละ 61.1-91.8<sup>5-10</sup> มีเพียง 2 ราย (ร้อยละ 2.6) เท่านั้นที่มีผลไม่สอดคล้องแบบบวก อาจเนื่องมาจากการแปลผลการย้อม IHC ของโรงพยาบาลสวรรค์ประชารักษ์มีความถูกต้องและมีความแม่นยำสูง รวมทั้งการพัฒนาเทคโนโลยีการย้อม IHC และประสิทธิภาพของระบบการรายงานผลตามเกณฑ์ของ ASCO/CAP 2018 ส่วนการศึกษาอื่นส่วนใหญ่ยังมีการใช้ระบบการรายงานผลตามเกณฑ์ของ ASCO/CAP 2013 อยู่ การตรวจสถานะตัวรับ HER2 ด้วยวิธี IHC ที่มีผลเป็น 3+ ของโรงพยาบาลสวรรค์ประชารักษ์มีความสอดคล้องกับผลตรวจ ISH สูงมาก จึงมีความเป็นไปได้ที่อายุรแพทย์มะเร็งวิทยา จะพิจารณาใช้ยาการรักษาเสริมด้วยยาต้านยีนก่อมะเร็งแก่ผู้ป่วยมะเร็งเต้านมได้ทันที ทำให้ผู้ป่วยได้รับการรักษาที่รวดเร็วขึ้น โดยไม่จำเป็นต้องส่งตรวจ ISH เพิ่มเพื่อยืนยันผล ซึ่งการพยากรณ์โรคของผู้ป่วยมะเร็งเต้านมในกลุ่มนี้ไม่ค่อยดี จึงควรได้รับการรักษาอย่างเร่งด่วน เพื่อจะช่วยเพิ่มอัตราการรอดชีวิต และเพิ่มคุณภาพชีวิตที่ดีของผู้ป่วย เช่นเดียวกับผลการศึกษาอื่นที่แนะนำว่าไม่มีความจำเป็นต้องตรวจยืนยันผลสถานะตัวรับ HER2 ด้วยวิธี ISH ในผู้ป่วยที่มีผล

ตรวจ IHC 3+ และสามารถพิจารณาให้ยาต้านฮัยนก่อนมะเร็งได้ทันที<sup>8,10</sup> นอกจากนี้ผู้ป่วยมะเร็งเต้านมจะได้รับการรักษาที่รวดเร็วแล้ว ยังช่วยลดภาระค่าใช้จ่ายของผู้ป่วย และโรงพยาบาลในการส่งตรวจ ISH เพื่อยืนยันผล IHC ที่เป็น 3+ ซึ่งมีค่าใช้จ่ายค่อนข้างสูง

การตรวจสถานะตัวรับ HER2 ด้วยวิธี IHC ที่มีผลเป็น 2+ จำนวน 51 คน มีความสอดคล้องกับการตรวจยืนยันด้วยวิธี ISH ค่อนข้างต่ำ ซึ่งมีความสอดคล้องเพียงร้อยละ 52.9(27/51) สอดคล้องกับการศึกษาอื่นที่รายงานความสอดคล้องอยู่ระหว่างร้อยละ 18.2-70.0<sup>5-10</sup> โดยส่วนใหญ่รายงานไว้ระหว่างร้อยละ 30.3-64.4<sup>5,7,8,10</sup> การพิจารณาให้ยารักษาเสริมด้วยยาต้านฮัยนก่อนมะเร็งในผู้ป่วยกลุ่มนี้จึงมีความจำเป็นต้องตรวจยืนยันสถานะตัวรับ HER2 ด้วย ISH ทุกราย การศึกษาเพิ่มเติมเพื่อกำหนดหลักเกณฑ์ที่ใช้จำแนกผลการย้อม IHC ที่มีผล 2+ ระหว่างกลุ่มที่สอดคล้องกับกลุ่มที่ไม่สอดคล้อง อาจเป็นแนวทางหนึ่งเพื่อเป็นการพัฒนาการดูแลและรักษาผู้ป่วยมะเร็งเต้านมต่อไป

การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างผลตรวจสถานะตัวรับ HER2 ด้วยวิธี ISH กับลักษณะทางพยาธิวิทยาคลินิกของผู้ป่วย ได้แก่ อายุ ขนาดของก้อนมะเร็ง ตำแหน่งของก้อนมะเร็ง และระดับของจุลกายวิภาคของเนื้อเยื่อมะเร็ง พบว่าไม่มีความสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ สอดคล้องกับการศึกษาอื่นในหลายสถาบันที่ไม่พบความสัมพันธ์ทางสถิติเช่นกัน<sup>5-7</sup> แต่มีเพียงการศึกษาเดียวที่พบว่าผลการตรวจสถานะตัวรับ HER2 ด้วยวิธี ISH มีความสัมพันธ์กับขนาดก้อนมะเร็งอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p = 0.000$ )<sup>5</sup> การศึกษานี้และการศึกษาจากอีกหลายสถาบัน แสดงว่าสถานะตัวรับ HER2 ไม่พบความสัมพันธ์กับลักษณะทางพยาธิวิทยาคลินิกของผู้ป่วย โดยมีโอกาสพบสถานะตัวรับ HER2 เป็นผลบวกได้ทุกลักษณะ นอกจากนั้นรายงานการศึกษาผลการตรวจสถานะตัวรับ HER2 ด้วยวิธี ISH พบว่ามีความสอดคล้องกับการตรวจ ER (Estrogen receptor) และ PR (Progesterone receptor) ด้วยวิธี IHC มีค่า p-value อยู่ระหว่าง 0.000-0.015<sup>6,7</sup> จึงอาจพิจารณาใช้ผลการตรวจ ER และ PR ด้วยวิธี IHC มาช่วยทำนายผลการตรวจสถานะตัวรับ HER2 ได้ ซึ่งต้องทำการศึกษาต่อไป ส่วนการตรวจดัชนีการเพิ่มของเซลล์มะเร็ง (Ki-67) ด้วยวิธี IHC ผลการศึกษาที่เกี่ยวข้องรายงานไว้ไม่สอดคล้องกับผลการตรวจสถานะตัวรับ HER2 ด้วยวิธี ISH มีค่า p-value ระหว่าง 0.025->0.05<sup>6,7</sup> จึงยังไม่สามารถหาข้อยุติเกี่ยวกับความสัมพันธ์นี้ได้

ปัจจัยที่มีผลทำให้การตรวจสถานะตัวรับ HER2 ด้วยวิธี IHC คลาดเคลื่อนและไม่สอดคล้องกับผลตรวจ ISH ได้แก่ การเสื่อมสภาพของเซลล์มะเร็ง การเลือกตำแหน่งชิ้นเนื้อมะเร็ง

สำหรับการย้อม กระบวนการและระยะเวลาของชิ้นเนื้อที่อยู่ในน้ำยาคงสภาพ กระบวนการเตรียมชิ้นเนื้อด้วยน้ำยาเคมี กระบวนการคืนสภาพแอนติเจนในเซลล์มะเร็ง (epitope retrieval) และชนิดของโมโนโคลนอลแอนติบอดี (monoclonal antibody) ที่ใช้<sup>11</sup> ส่วนปัจจัยที่มีผลทำให้การตรวจสถานะตัวรับ HER2 ด้วยวิธี ISH คลาดเคลื่อน คือ การที่มีการเพิ่มจำนวนของโครโมโซมคู่ที่ 17 (polysomy chromosome 17) ซึ่งทำให้เกิดการแสดงออกของ HER2 gene มากกว่าปกติ (HER2 amplification) ซึ่งพบได้ถึงร้อยละ 15-25<sup>12</sup> ทำให้การแปลผลเป็นผลบวกลงได้ การมีกระบวนการตามมาตรฐานการตรวจสถานะตัวรับ HER2 ตั้งแต่การเก็บตัวอย่างชิ้นเนื้อ การตรวจชิ้นเนื้อ การแปลผล การรายงานผล การตรวจซ้ำ รวมทั้งผู้ปฏิบัติงานในห้องปฏิบัติการ พยาธิแพทย์ และศัลยแพทย์ ที่มีบทบาทสำคัญต่อการแปลผลการตรวจสถานะตัวรับ HER2 รวมถึงอายุรแพทย์มะเร็งวิทยา ที่เป็นผู้รักษาผู้ป่วยมะเร็งเต้านมควรมีแนวทางปฏิบัติที่เป็นมาตรฐานร่วมกัน เพื่อให้มั่นใจว่าผลการทดสอบสถานะตัวรับ HER2 มีความถูกต้อง และนำไปสู่การรักษาผู้ป่วยมะเร็งเต้านมได้เร็วและมีประสิทธิภาพที่สุด เพื่อให้ผู้ป่วยจะได้รับประโยชน์สูงสุด ได้รับการดูแลรักษาอย่างถูกต้อง เหมาะสม และทันเวลา ช่วยเพิ่มอัตราการรอดชีวิต และคุณภาพชีวิตของผู้ป่วยที่ดี

ข้อจำกัดของการศึกษานี้คือ เป็นการศึกษาโดยการเก็บข้อมูลย้อนหลัง ไม่ได้ทำการศึกษาในกลุ่มตัวอย่างที่มีผลการตรวจสถานะตัวรับ HER2 ด้วยวิธี IHC และมีผลเป็นลบ (0 หรือ 1+) ซึ่งไม่เข้าเกณฑ์ในการส่งตรวจยืนยันด้วยวิธี ISH ของโรงพยาบาลสวรรค์ประชารักษ์ และจากรายงานการศึกษาในสถาบันอื่นพบความสอดคล้องกับวิธี ISH ในกลุ่มที่ IHC เป็น 0 และ 1+ สูงมากถึงร้อยละ 100<sup>5,6</sup> และร้อยละ 90.6<sup>5</sup> ตามลำดับ บางรายงานการศึกษาพบความสอดคล้องระหว่าง IHC ที่มีผลเป็นลบ (0 และ 1+) กับผล ISH สูงถึงร้อยละ 93.7-100<sup>6,7</sup> จึงมีข้อยุติร่วมกันว่าผลการตรวจสถานะตัวรับ HER2 ด้วยวิธี IHC ที่เป็น 0 กับ 1+ มีความถูกต้อง แม่นยำสูงมาก จึงไม่มีความจำเป็นต้องทำการศึกษาซ้ำในกลุ่มนี้และยังช่วยประหยัดค่าใช้จ่ายในการศึกษาได้ เทคนิคที่ใช้ตรวจยืนยันสถานะตัวรับ HER2 ด้วยวิธี ISH ของการศึกษานี้ประกอบด้วย 2 วิธีคือ FISH (Fluorescence In Situ Hybridization) และ DISH (Dual-color In Situ Hybridization) โดยส่วนใหญ่เป็นการตรวจด้วยวิธี DISH ที่มีรายงานการศึกษาความสอดคล้องของทั้งสองวิธีไว้ที่ร้อยละ 83 มีค่า kappa coefficient เท่ากับ 0.58 ( $p < 0.001$ ) ซึ่งมีเกณฑ์ในระดับที่ยอมรับได้ แต่ความสอดคล้องของทั้งสองวิธีลดลงเมื่อพบความผิดปกติของ Chromosome 17 ซึ่งพบได้ไม่บ่อย โดยมีความสอดคล้องกันเพียงร้อยละ 64 แต่ค่า kappa



coefficient ยังคงเท่ากับ 0.58 ( $p < 0.001$ ) ซึ่งการประเมินสถานะตัวรับ HER2 ด้วยวิธี DISH และ FISH จึงมีข้อจำกัด คือวิธี DISH มีผลการประเมินอัตราส่วน HER2/centromere 17 ต่ำกว่า FISH และมีหลายรายที่ผล FISH เป็นกำกวม (equivocal) แต่ผล DISH เป็นลบ (negative) ซึ่งยังหาข้อสรุปได้ยากว่าผลการประเมินอัตราส่วน HER2/centromere 17 ด้วยวิธี DISH ต่ำกว่าความเป็นจริง หรือวิธี FISH จะสูงเกินจริง<sup>13</sup> แต่ทั้งสองวิธียังคงเป็นวิธีมาตรฐานที่สามารถใช้ประเมินสถานะตัวรับ HER2 ได้

การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างผลการตรวจสถานะตัวรับ HER2 กับ ผลการตรวจ IHC ของ ER, PR เพื่อใช้พยากรณ์ผลการตรวจสถานะตัวรับ HER2 และการประเมินผลการรักษาโดยใช้ยาต้านยีนก่อมะเร็ง เป็นการศึกษาที่สามารถต่อยอดเพื่อพัฒนาการตรวจสถานะตัวรับ HER2 ต่อไป

## สรุป

การตรวจสถานะตัวรับ HER2 ด้วยวิธี IHC ของโรงพยาบาลสวรรค์ประชารักษ์มีความสอดคล้องกับการตรวจ ISH สูง โดยเฉพาะในกลุ่ม IHC 3+ ส่วนสถานะตัวรับ HER2 ในกลุ่ม IHC 2+ พบว่ามีความสอดคล้องกับผลตรวจ ISH ต่ำ ลักษณะทางพยาธิวิทยาคลินิกของผู้ป่วย ได้แก่ อายุ ขนาดของก้อนมะเร็ง ตำแหน่งของก้อนมะเร็ง และระดับของจุลกายวิภาคของเนื้อเยื่อมะเร็ง พบว่าไม่มีความสัมพันธ์กับสถานะตัวรับ HER2

## เอกสารอ้างอิง

1. Global Cancer Observatory. Estimated cancer incidence, mortality and prevalence worldwide in 2020[internet]. 2020 [cited 2022 Jun 15]. Available from: <http://globocan.iarc.fr/factsheet.asp>
2. Jedpiyawongse A, Sakapiboonnan A, Tanasitthichai S. p95HER2 and Breast Cancer. *Thai Cancer J* 2017; 37(3):114-22.
3. Pongthong W, Aiamanan M. Nurses role in preventing cardiotoxicity from Trastuzumab drug in HER2 breast cancer patients. *TJN* 2020; 69(2):56-65.
4. Fleiss JL, Levin B and Paik MC. *Statistical Methods for Rates and Proportions*, Third Edition. New Jersey: John Wiley & Sonc; 2003.
5. Zhao B, Wang Y, Xu H. Concordance of immunohistochemistry and fluorescence in situ hybrid-

6. Bogdanovska-Todorovska M, Kostadinova-Kunovska S, Jovanovik R, Krsteska B, Kondov G, Kondov B, et al. Correlation of Immunohistochemistry and Fluorescence in Situ Hybridization for HER2 Assessment in Breast Cancer Patients: Single Centre Experience. *Maced J Med Sci* 2018; 6(4):593-9.
7. Ruan S, Liu Y, Tang X, Yang Z, Huang J, Li X, et al. HER2 status and its clinicopathologic significance in breast cancer in patients from southwest China: re-evaluation of correlation between results from FISH and IHC. *Int J Clin Exp Pathol* 2017; 10(7):7270-6.
8. Payandeh M, Sadeghi M, Sadeghi E, Janbakhsh A. Is there any concordance between of IHC with FISH in HER2-positive breast cancer patients?. *Int J Hematol Oncol Stem Cell Res* 2017; 11(1):43-8.
9. Bahreini F, Soltanian AR, Mehdipour P. A meta-analysis on concordance between immunohistochemistry (IHC) and fluorescence in situ hybridization (FISH) to detect HER2 gene overexpression in breast cancer. *Breast cancer* 2015; 22(6):615-25.
10. Thambamroong T. The Concordance between IHC and ISH for HER-2 testing in breast cancer in Nakhon Pathom Hospital, Thailand, based on the ASCO/CAP 2018 guidelines:a retrospective study. *Ecancermedalscience*. 2022; 16:1370.
11. Pala EE, Bayol U, Ozguzer A, Kucuk U, Yildiz C, Sezer O. Problems In Determining Her2 Status In Breast Carcinoma. *J Breast Health* 2015; 11:10-6.
12. Tas EO, Pala E, Ercan I, Sag S. Investigating impact of polysomy 17 in breast cancer patients with HER2 amplification through meta-analysis. *Turkish J Bio* 2019; 44(4):411-6.
13. Mansfield AS, Sukov WR, Eckel-Passow JE, Yuta S, Walsh FJ, Lonzo M, et al. Comparison of Fluorescence In Situ Hybridization (FISH) and Dual-ISH (DISH) in Determination of HER2 Status in Breast Cancer. *Am J Clin Pathol* 2013; 139:144-50.