บทความพิเศษ

การตรวจตัวรับฮอร์โมนและดัชนีการเพิ่มจำนวนของเซลล์มะเร็งเต้านมโดยวิธีอิมมูนเคมี

พิเชษฐ สัมปทานุกุล*
พงษ์ศักดิ์ วรรณไกรโรจน์* ปรีชา เรืองเวชวรชัย*
มุกดา ตั้งวงศ์ศิริ* ชูศักดิ์ วิรัชชัย*

Sampatanukul P, Wannakrairot P, Ruangwejworachai P, Tangwongsiri M, Viratchai C. Immunohistochemical detection of hormonal receptors and proliferating index in breast carcinoma. Chula Med J 1995 May;39(5): 329-335

Immunohistochemical analysis of estrogen receptor (ER) progesterone receptor (PR) and proliferating index (PI, Ki-67) has been set up as a routine service basis for new cases of breast cancer in the Department of Pathology, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University since January 1994. The technique has the benefit over the conventional biochemical assay of receptor content and suits the daily work of anatomical pathologists. Tissue specimens can be either fresh-frozen or formalin-fixed, paraffin-embedded sections. On comparing with fresh-frozen tissue, hormone receptors and Ki-67 determinations remain the same in the tissue fixed with 10 % neutral bufferd formalin within 30 hours before process. Cytologic specimens should be air-dried or fixed in periodate-lysine-paraformaldehyde. Cell block preparation can also be used. Positive staining is counted only on labelling of the nuclei of tumor cells. The number of positive cells are divided into 5 classes namely, 0-5 % of tumor cells = class 0; 6-25 % = class + 1; 26-50 % = class + 2; 51-75 % = class+3; and 76-100 % = class + 4. The setup and reporting system has been proven to be practicable and provides future studies of prognostic results.

Key words : *Hormone receptor, Estrogen receptor, Progesterone receptor, Ki-67, Breast carcinoma.*

Reprint request : Sampatanukul P, Department of Pathology, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University, Bangkok 10330, Thailand.

Received for publication. March 9,1995.

*ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

มะเร็งเต้านมเป็นมะเร็งที่พบมากในสตรีทั่วโลก ประมาณว่ามีผู้ป่วยใหม่ 600,000 รายต่อปี[1] ในประเทศไทยพบมีผู้ป่วยใหม่ด้วยมะเร็งเต้านมในปี พ.ศ. 2533 ราว 3,263 ราย[2] สถิติการพบผู้ป่วยรายใหม่ของโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ เมื่อปี พ.ศ. 2534 มี 177 ราย[3] เนื่องจากมะเร็งเต้านมเป็นมะเร็งที่รักษาได้ หากแต่ผลการรักษามีความแตกต่างกันมาก อีกทั้งวิธีการรักษาก็มีหลายแบบ การศึกษาเรื่องตัวบ่งชี้หรือดัชนีพยากรณ์โรคจึงมีความสำคัญ ที่แพทย์จะใช้เป็นข้อมูลในการเลือกวิธีการรักษาที่เหมาะสมสำหรับผู้ป่วยแต่ละคน โดยทั่วไป สำหรับก้อนที่สามารถผ่าตัดได้ ผู้ป่วยจะได้รับการผ่าตัดโดยวิธี modified radical mastectomy หรือ local lumpectomy ร่วมกับ axillary node dissection ภายหลังผ่าตัด ผู้ป่วยส่วนมากยังต้องรับการรักษาร่วมโดยรังสีรักษา เคมีบำบัด และ/หรือการรักษาทางฮอร์โมน การตรวจตัวรับฮอร์โมนเอสโตรเจน และโปรเจสเตอโรน และดัชนีการเพิ่มจำนวนของเซลล์มะเร็ง จะช่วยพยากรณ์โรคและช่วยบอกแนวโน้มของการตอบสนองต่อการรักษาด้วยฮอร์โมน หรือเคมีบำบัด ในผู้ป่วยเฉพาะราย จึงเป็นปัจจัยสำคัญอันหนึ่งของการตรวจทางพยาธิวิทยา

สมัยก่อนการตรวจตัวรับฮอร์โมนเอสโตรเจน และโปรเจสเตอโรนใช้วิธีทางชีวเคมี ส่วนดัชนีการเพิ่มจำนวนของเซลล์ยังไม่มีการพูดถึงชัดเจน การตรวจทางชีวเคมีจะเริ่มโดยบดชิ้นเนื้อที่แบ่งจากก้อนมะเร็งก่อน แล้วจึงสกัดออกมาวัดค่าของฮอร์โมน วิธีนี้จะไม่สามารถเห็นตัวรับฮอร์โมนว่าอยู่ในลักษณะอย่างไรกับเซลล์มะเร็ง ปัจจุบันนี้ความนิยมเริ่มเปลี่ยนมาใช้การตรวจโดยวิธีอิมมูนเคมี ซึ่งจะมองเห็นตำแหน่งของตัวรับฮอร์โมนบนเซลล์ได้ ทำให้มีความแม่นยำยิ่งขึ้น[4] การตรวจโดยวิธีอิมมูนเคมีเป็นการอาศัยการเกิดปฏิกิริยาสีต่อการจับตัวทางอิมมูนระหว่างแอนติบอดี้สังเคราะห์กับตัวรับฮอร์โมนหรือสารที่ต้องการศึกษาบนเซลล์ เนื่องจากการสังเคราะห์แอนติบอดี้ต่อตัวรับฮอร์โมนเอสโตนเจน และโปรเจสเตอโรน รวมทั้งแอนติบอดี้ต่อโปรตีนบ่งชี้การเพิ่มจำนวนของเซลล์ เพิ่งเป็นผลสัมฤทธิ์ในระยะสิบกว่าปีมานี้เอง[5,6] ในระยะแรกๆ การศึกษาส่วนใหญ่เป็นในเชิงวิจัยและการพัฒนาวิธีการ หลังจากที่มีผลการศึกษามากมายที่สนับสนุนความน่าเชื่อถือและประโยชน์ของการตรวจโดยวิธีนี้[4] จึงมีสถาบันต่างๆ นำมาตรวจในงานบริการปกติ

ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เป็นสถาบันแรกในประเทศไทยที่มีการให้บริการ การตรวจตัวรับฮอร์โมน และดัชนีการเพิ่มจำนวนของเซลล์มะเร็งเต้านม โดยวิธีอิมมูนเคมี โดยทีมงานของผู้เขียนได้ รับทุนวิจัยจากเงินทุนรัชดาภิเษกสมโภชคณะแพทยศาสตร์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เพื่อดำเนินการศึกษา และพัฒนาเทคนิควิธีการ เมื่อ พ.ศ.2534 การดำเนินงานได้ผลสำเร็จ สามารถจัดตั้งเป็นงานบริการแก่ผู้ป่วยมะเร็งเต้านม จึงได้เปิดเป็นงานบริการทั่วไปของภาควิชา นับตั้งแต่ต้นปีพ.ศ.2537 เป็นต้นมา

บทความนี้จะได้นำเสนอแง่มุมบางประการเกี่ยวข้องกับดัชนีที่วัด ข้อดีของการตรวจโดยวิธีอิมมูนเคมี การส่งตรวจ การรายงานผล และการแปลผล

ดัชนีที่วัด

ดัชนีที่วัดประกอบด้วยการตรวจตัวรับฮอร์โมน 2 ชนิด และดัชนีการเพิ่มจำนวนของเซลล์ ตัวรับฮอร์โมน 2 ชนิด คือ ตัวรับฮอร์โมนเอสโตรเจน (estrogen receptor, ER) และตัวรับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน (progesterone, PR) ส่วนดัชนีการเพิ่มจำนวนของเซลล์ (proliferating index, PI) จะใช้แอนติบอดี้สังเคราะห์ที่เรียกว่า Ki-67 การตอบสนองต่อการรักษาด้วยฮอร์โมนของเซลล์มะเร็งต้องพึ่งตัวรับฮอร์โมน เนื้อเยื่อมะเร็งเต้านมที่มีตัวรับฮอร์โมนจำนวนมาก จึงมีพยากรณ์โรคที่ดี และมีแนวโน้มตอบสนองต่อฮอร์โมนบำบัด มากกว่าเนื้อเยื่อที่ไม่มีตัวรับฮอร์โมน หรือมีในจำนวนที่น้อยมาก[7] ขณะที่ดัชนีการเพิ่มจำนวนของเซลล์ Ki-67 หากมีมากจะให้พยากรณ์โรคที่ไม่ดีแต่จะตอบสนองต่อเคมีบำบัด[7,8]

ความสำคัญระหว่าง ER กับ PR ว่าตัวใดเป็นตัวบ่งชี้ที่ดีกว่ากันยังเป็นที่ถกเถียงกัน[9-11] ในสตรีที่ยังอยู่ในวัยมีประจำเดือน (pre-menopausal group) มักพบร้อยละของผลบวกต่อ ER น้อยกว่า กลุ่มสตรีที่อยู่ในวัยหมดการมีประจำเดือนแล้ว (menopausal group) แต่โดยเหตุที่กลุ่มทั้งสองไม่มีความแตกต่างใน

สัดส่วนของการรักษาได้ด้วยฮอร์โมนอย่างชัดเจน จึงมีการเสนอแนะว่า PR มีบทบาทสำคัญต่อการพยากรณ์โรคเหนือ ER ในกลุ่มของผู้ป่วยที่ยังอยู่ในวัยมีประจำเดือน[12] การตรวจ Ki-67 เป็นการตรวจหาแอนติเจนของนิวเคลียสที่อยู่ในระยะ G_1, S, G_2 และ M ของวงจรการแบ่งตัวเซลล์ (cell division cycle) โดยที่นิวเคลียสของเซลล์ในระยะพัก (G_0) จะไม่แสดงสารนี้ จึงบอกถึงการเพิ่มจำนวนของเซลล์ได้แม่นยำ เนื้อเยื่อมะเร็งที่มีเซลล์อยู่ในวงจรการแบ่งตัวมาก จะมีค่า Ki-67 สูง ในทางตรงกันข้าม เซลล์ที่อยู่ในระยะพักเป็นจำนวนมาก จะมีค่า Ki-67 ต่ำ มีการศึกษาที่ยืนยันความสัมพันธ์ในเชิงผกผันระหว่างอัตราการพบตัวรับฮอร์โมนกับอัตราการเพิ่มจำนวนของเซลล์มะเร็งโดยวิธีตรวจ Ki-67[13,14] อย่างไรก็ตามพบมีผู้ป่วยที่มีทั้งตัวรับฮอร์โมนและ Ki-67 สูงด้วย[14]

ข้อดีของการตรวจโดยวิธีอิมมูนเคมี

การตรวจหาตัวรับฮอร์โมนมีหลายวิธี วิธีดั้งเดิมที่ใช้กันแพร่หลายคือ Dextran-coated charcoal ซึ่งเป็นการตรวจโดยเทคนิคทางชีวเคมี แต่มีข้อจำกัดหลายประการได้แก่

1. ต้องใช้เนื้อตรวจจำนวนหนึ่ง (ประมาณ 1 กรัม) ที่แบ่งไปจากเนื้อเยื่อมะเร็งเพื่อตรวจทางกล้องจุลทรรศน์ ในก้อนเนื้องอกเล็กๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่ง intraductal carcinoma จะไม่มีเนื้อเพียงพอ หรือไม่เหมาะสมที่จะส่งตรวจโดยวิธีนี้ได้

2. ไม่สามารถบอกชัดเจนได้ว่า ER ที่วัดได้เป็นการวัดจากเซลล์มะเร็งหรือไม่มากน้อยเพียงใด หรืออาจเป็นเนื้อเยื่อส่วนที่ปกติของเต้านมเองโดยมีเซลล์มะเร็งในชิ้นเนื้อวิเคราะห์อยู่น้อยมาก ค่าที่ได้จึงอาจไม่แสดงผลของก้อนมะเร็งอย่างแท้จริง

3. ER เป็นโมเลกุลที่ไม่คงสภาพ ปริมาณ ER ลดต่ำลงได้อย่างรวดเร็ว หากการเก็บชิ้นเนื้อไม่ดีพอ การรักษาระดับของ ER ให้คงอยู่ ต้องเก็บชิ้นเนื้อภายใต้อุณหภูมิ -70 องศาเซลเซียสทันที ปัญหาของการจัดเก็บและการที่ต้องส่งไปตรวจยังห้องปฏิบัติการที่อยู่ไกลออกไปก่อให้เกิดการเสื่อมสลายไปของ ER บางส่วนอย่างเลี่ยงไม่ได้ และ

4. การวัดทางชีวเคมีเป็นการวัดหา binding capacity ของฮอร์โมน หากมีการรบกวนต่อการจับกับฮอร์โมนก็จะทำให้ได้ค่าที่คลาดเคลื่อน

การตรวจโดยอิมมูนเคมีจากชิ้นเนื้อที่เตรียมโดยวิธีทางพยาธิวิทยา เป็นวิธีการใหม่ที่ทำให้พยาธิแพทย์กายวิภาคสามารถศึกษา ER, PR และ Ki-67 ไปด้วยกันได้ พร้อมกับการตรวจชิ้นเนื้อทางกล้องจุลทรรศน์ในงานปกติที่กระทำอยู่ ชิ้นมะเร็งขนาดเล็กก็สามารถตรวจได้ ข้อดีมากของวิธีนี้คือ สามารถเห็นเซลล์ได้ชัดเจนว่าเป็นการติดสีซึ่งแสดงผลบวก เกิดบนเซลล์ปกติของเต้านมหรือเซลล์มะเร็ง (รูปที่ 1) ทำให้มีความแม่นยำในการแปลผล จากรูปที่ 2 แสดงให้เห็นตัวอย่าง ที่จะเกิดผลบวกลวง โดยวิธีทางชีวเคมีได้ เพราะตัวรับฮอร์โมนอยู่บนเซลล์ปกติ ไม่ใช่เซลล์มะเร็ง การตรวจโดยวิธีอิมมูนเคมีสามารถแสดงการติดสีของตัวรับบนเซลล์ ให้เห็นได้ชัดเจน นอกจากนี้ในปัจจุบันสามารถย้อมในชิ้นเนื้อที่ผ่านการ fix ด้วย formalin และฝังอยู่ใน paraffin[15,16] ทำให้ยิ่งสะดวก และการเก็บเนื้อเยื่อง่ายขึ้น ไม่จำเป็นต้องศึกษาเฉพาะใน frozen section เท่านั้น อย่างไรก็ตามจากการศึกษานำร่องของผู้เขียน พบว่าชิ้นเนื้อที่เก็บอยู่ใน paraffin block เป็นเวลาหลายปีไม่สามารถใช้ศึกษาได้แต่ชิ้นเนื้อที่แช่ใน 10% neutral buffer formalin น้อยกว่า 30 ชั่วโมง ก่อนทำ block จะให้ผลไม่แตกต่างจากการย้อมใน frozen section และชิ้นเนื้อที่แช่ใน formalin นาน 6 ชั่วโมง[17]

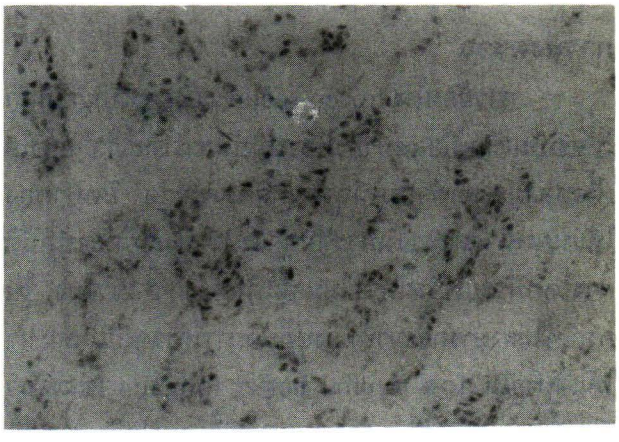

Figure 1. Immunostaining for estrogen receptors in breast carcinoma (x200).

Figure 2. Immunostaining for progestone receptors (x200). Note positive nuclear stainings occur in benign duct cells and negative in tumor cells.

การตรวจโดยวิธีอิมมูนเคมีนี้ยังสามารถทำในตัวอย่างเซลล์ได้ด้วย ตัวอย่างเซลล์จะได้จากการเจาะดูดโดยใช้เข็มขนาดเล็ก (Fine needle aspiration cytology) และการทาบเนื้อบนสไลด์ (Touch imprint preparation)[18] ผลของการตรวจตัวรับฮอร์โมนโดยใช้ตัวอย่างนี้สามารถช่วยในการวางแนวทางการรักษาในผู้ป่วยได้[19] จากการวิจัยของผู้เขียนได้พบว่าใช้วิธีการย้อมเหมือนในชิ้นเนื้อ แต่การ fix ต้องไม่ใช้ alcohol ให้ใช้เป็น air dried smear หรือ fix ในน้ำยา periodate-lysine-paraformaldehyde (PLP) ดังจะได้กล่าวถึงในขั้นตอนการส่งตรวจต่อไป

การส่งตรวจ

การย้อมใน frozen section ยังควรเป็นวิธีหลัก ให้ส่งเป็นเนื้อเยื่อสดมายังห้องปฏิบัติการโดยเร็ว อาจใส่เนื้อของมะเร็งเต้านมในถุงพลาสติกสะอาด ปิดปากถุงให้แน่นหนาแล้วแช่ในกระติกน้ำแข็ง ส่งมาที่ห้องปฏิบัติการโดยที่ระยะเวลาควรไม่นานเกินกว่า 2 ชั่วโมง ในกรณีที่ไม่สามารถส่งมาที่ห้องปฏิบัติการได้รวดเร็ว แนะนำให้แช่เนื้อใน 10% neutral buffer formalin เช่นเดียวกับการ fix เนื้อเยื่อตรวจทางพยาธิวิทยาปกติ และรีบนำส่งภายในวันนั้น เพื่อทางห้องปฏิบัติการพยาธิวิทยาจะได้ตัดชิ้นเนื้อและเตรียมในขั้นตอนต่อไป เนื้อเยื่อที่แช่อยู่ใน formalin นานเกินไปหรือความเข้มข้นของ formalin มากเกินไป จะทำให้สภาพโมเลกุลของ ER, PR และ Ki- 67 เสียหายได้

สำหรับการเจาะดูดก้อนเนื้อมะเร็งของเต้านมเพื่อตรวจหา ER, PR และ Ki-67 ซึ่งมีข้อบ่งชี้ในผู้ป่วยที่เป็นโรคมะเร็งระยะสุดท้าย หรือในผู้ป่วยซึ่งมีปัญหาของก้อนมะเร็งเกิดขึ้นใหม่หลังจากการผ่าตัดเต้านมไปแล้ว[20] การเตรียมสเมียร์ต้องเตรียมแบบ air dried คือไม่ fix ด้วย alcohol ในห้องปฏิบัติการนิยม fix ด้วยน้ำยาพิเศษคือ PLP ซึ่งเป็นส่วนผสมของ Periodic acid, lysine และ paraformaldehyde น้ำยาชนิดนี้จะรักษาสภาพของเซลล์ได้ดี ขณะเดียวกันก็รักษาแอนติเจนได้ดีด้วย แต่มีข้อเสียคือต้องเตรียมน้ำยาขึ้นใหม่ทุกครั้งที่จะใช้งาน การเตรียมเป็น cell block เป็นอีกเทคนิคหนึ่งที่ทำได้ โดยชะล้างสิ่งที่เจาะดูดได้ลงในน้ำเกลือนอร์มัล จากนั้นทำการปั่นและแยกส่วนตะกอนไปทำให้เป็นก้อนโดยฝังอยู่ในพลาสมา ต่อจากนั้นจึงเตรียมเหมือนการเตรียมเนื้อเยื่อที่ fix ด้วย formalin ตามปกติ

การรายงานผล

ปัจจุบัน ทางภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย จะให้บริการและรายงานผล ER, PR และ Ki-67 ในผู้ป่วยมะเร็งเต้านมใหม่ทุกราย โดยเนื้อสดที่ถูกส่งมาเพื่อขอการวินิจฉัยด่วนระหว่างผ่าตัด เมื่อวินิจฉัยเป็นมะเร็งเต้านม เจ้าหน้าที่จะตัด frozen sections เพิ่มเพื่อส่งตรวจ ER, PR และ Ki-67 ในกรณีที่ไม่ได้ส่งเป็นชิ้นเนื้อสด เช่น เคยตรวจเซลล์วินิจฉัยก่อนผ่าตัดยืนยันว่าเป็นมะเร็งเต้านม และได้รับการผ่าตัดเป็นชิ้นเนื้อใหญ่ส่งมาการตรวจ ER, PR และ Ki-67 จะทำการตรวจหาจาก formalin-fixed, paraffin - embedded sections ในทางปฏิบัติชิ้นเนื้อผ่าตัดขนาดใหญ่ของโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ จะแช่อยู่ใน formalin ไม่เกิน 30 ชั่วโมง ซึ่งทางกลุ่มได้ทดลองเปรียบเทียบผลโดยการเตรียมจาก frozen section และเนื้อเยื่อที่ผ่านการ fix ใน formalin เป็นระยะเวลา 30 ชั่วโมง พบว่าไม่แตกต่างกัน[17] การรายงานผลจะอาศัยการจัดหมวดหมู่เป็น 5 ขั้น (ตารางที่ 1) ซึ่งประกอบด้วย ขั้น 0 คือ มีเซลล์มะเร็งติดสีไม่ถึงร้อยละ 5 ของเซลล์มะเร็งที่ถูกตรวจสอบทั้งแผ่นสไลด์

ขั้น + 1 คือ มีเซลล์มะเร็งติดสีตั้งแต่ร้อยละ 5 ถึง 25 ขั้น +2, +3 และ +4 คือ มีเซลล์มะเร็งติดสีระหว่างร้อยละ 26-50, 51-75, 76-100 ตามลำดับ การนับเซลล์ติดสีบวกจะนับเฉพาะการติดสีน้ำตาลในนิวเคลียสของเซลล์มะเร็งเท่านั้น ไม่นับเซลล์ที่ติดสีในซัยโตปลาสซึม (รูปที่ 3)

Table 1. Reporting system using in the Institute.

Expression of Estrogen Receptor	Expression of Progesterone Receptor	Expression of Proliferating index	Classified as:
☐ 0 - 5 %	☐ 0 - 5 %	☐ 0 - 5%	0
☐ 6 - 25 %	☐ 6 - 25 %	☐ 6 - 25%	+1
☐ 26 - 50 %	☐ 26 - 50 %	☐ 26 - 50%	+2
☐ 51 - 75 %	☐ 51 - 75 %	☐ 51 - 75%	+3
☐ 76 - 100 %	☐ 76 - 100 %	☐ 76 - 100%	+4

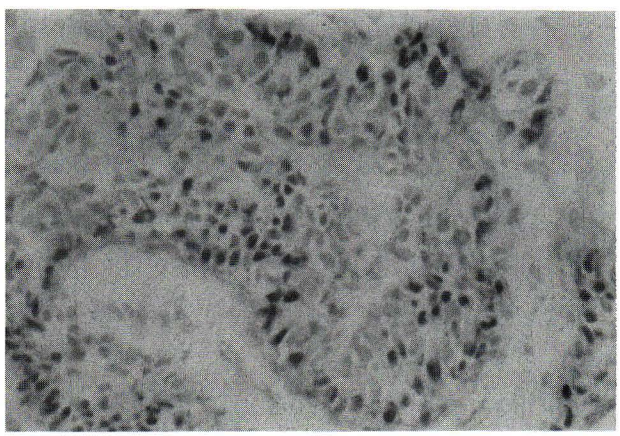

Figure 3. Positive immunostaining for Ki-67 demonstrated in the tumor nuclei (x 400).

การแปลผล

รูปแบบของการรายงานผลนี้ได้คิดขึ้นเพื่อให้เหมาะสม เข้าใจง่ายกับการใช้งานในการบริการทั่วไป โดยขั้น 0 (มีนิวเคลียสของเซลล์มะเร็ง ติดสี 0-5%) เป็นผลลบ ขั้น 1 (มีนิวเคลียสของเซลล์มะเร็งติดสี 6-25%) เป็นบวกในเกณฑ์ต่ำ และขั้น 2-4 (นิวเคลียสของเซลล์มะเร็งติดสีตั้งแต่ 26% ขึ้นไป) เป็นบวกในเกณฑ์สูง

การศึกษาเบื้องต้นของผู้เขียนถึงความสัมพันธ์ของตัวรับฮอร์โมน และ Ki-67 (โดยใช้การแปลผลที่กล่าวไว้ข้างต้น) กับ ขนาดของก้อนมะเร็ง grade และ nodal status ในผู้ป่วย 82 ราย พบว่าตัวรับฮอร์โมน และ Ki-67 น่าจะมีความสัมพันธ์กับขนาด และ grade แต่ตัวรับฮอร์โมนดูจะไม่สัมพันธ์กับ nodal status[21] ส่วน Ki-67 ยังไม่สามารถระบุความสัมพันธ์ได้ชัดเจน ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาในต่างประเทศ[22]

สรุป

ตั้งแต่ต้นปี พ.ศ. 2537 เป็นต้นมา ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ได้เริ่มการตรวจตัวรับฮอร์โมนเอสโตรเจน และโปรเจสเตอโรน และดัชนีการเพิ่มจำนวนของเซลล์มะเร็งเต้านมโดยวิธีอิมมูนเคมี ในผู้ป่วยมะเร็งเต้านมทุกราย โดยจะย้อมในเนื้อแช่แข็งตัดบางหรือเนื้อเยื่อที่ผ่านการดองในฟอร์มาลินซึ่งดองไว้ไม่นานเกิน 30 ชั่วโมง การตรวจยังสามารถกระทำได้ในตัวอย่างเซลล์ที่เจาะดูดออกมาโดยเตรียมเป็นสเมียร์แห้งซึ่งไม่จุ่มในอัลกอฮอล์ หรือสเมียร์ที่รักษาสภาพด้วยน้ำยา PLP การรายงานผลใช้แบ่งเป็น 5 ขั้น โดย ขั้น 0 หมายถึงมีเซลล์มะเร็งที่ติดสี

น้ำตาลไม่เกินร้อยละ 5 ขั้น + 1 หมายถึง มีเซลล์มะเร็งที่ติดสีน้ำตาลพบร้อยละ 6-25 ขั้น +2, +3 และ +4 หมายถึงมีเซลล์มะเร็งที่ติดสีน้ำตาลระหว่างร้อยละ 26-50, 51-75 และ 76-100 ตามลำดับ โดยเซลล์ที่ให้ผลบวกต้องติดในนิวเคลียส ไม่นับการติดในส่วนซัยโตพลาสซึม การดำเนินงานที่ผ่านมาเป็นไปด้วยดี และจะรองรับการวิจัยไปข้างหน้าถึงผลการตอบสนองต่อการรักษาในผู้ป่วยกลุ่มต่างๆ ต่อไป

อ้างอิง

1. Parkin DM, Laara E, Muir CS. Cancer occurence in Developing Contries. Lyon : Iare Scientific Publications, 1986
2. Vatanasapt V, Martin N, Sriplungg H, Cindavijak K, Sontipong S, Sriamporn S, Parkin DM, Ferlay J. Cancer in Thailand 1988-1991. Iarc Tech Rep 1993; 16
3. Chulalongkorn Hospital. Tumor Registry Statistical Report 1991
4. Cote RJ, Taylor CR. Immunohistochemical detection of steroid hormone receptors. In : Taylor CR, Cote RJ(eds) Immunomicroscopy : A Diagnostic Tool for the Surgical Pathologist. Philadelphia : Saunders 1994 :277-291
5. King WJ, Greene GL. Monoclonal antibodies localize oestrogen receptor in the nuclei of target cells. Nature 1984 Feb 23; 307 (5953): 745-2
6. Gerdes J, Schwab U, Lemke H, Stein H. Production of a monoclonal antibody reactive with a human nuclear antigen associated with cell proliferation. Int J Cancer 1983 Jan 15; 31(1): 13-20
7. American College of Surgeons. Adjuvent therapy of common malignancies. In: The Cancer Management Course. The Royal College of Surgeons of Thailand and The American College of Surgeons. February 20-21, 1995. Bangkok, Thailand, 1995 : 35.
8. Barnard NJ, Hall PA, Lemoine NR, Kadar N. Proliferative index in breast carcinoma determined in situ by Ki-67 immunostaining and its relationship to clinical and pathological variables. J Pathol 1987 Aug; 152(4):287-95
9. Hawkins RA, White G, Bundred NJ, Dixon JM, Miller WR, Stewart HJ, Forrest AP. Prognostic significance of oestrogen and progestogen receptor activities in breast cancer. Br J Surg 1987 Nov; 74(11): 1009-13
10. Sutton R, Campbell M, Cooke T, Nicholson R, Griffiths K, Taylor I. Predictive power of progesterone receptor status in early breast carcinoma. Br J Surg 1987 Mar; 74(3):223-6
11. Knight WA 3d, Osborne CK, Yochmowitz MG, Mc Guire WL. Steroid hormone receptors in the management of human breast cancer. Ann Clin Res 1980 Oct; 12(5):202-7
12. Bland KI, Copeland EM. Breast. In : Schwartz SI ed. Principles of Surgery. 6th ed. New York: McGraw Hill, 1994: 583
13. Gerdes J, Pickartz H, Brotherton J, Hammerstein J, Weitzel H, Stein H. Growth fractions and estrogen receptors in human breast cancers as determined in situ with monoclonal antibodies. Am J Pathol 1987 Dec; 129(3): 486-92
14. Raymond W, Leong AS. The relationship between groth fractions and oestrogen receptors in human breast carcinoma, as determined by immunohistochemical

staining. J Pathol 1989 Dec; 158(3): 203-11

15. Aasmundstad TA, Haugen OA, Johannesen E, Hoe AL, Kvinnsland S. Oestrogen receptor analysis: correlation between enzyme immunoassay and immunohistochemical method. J Clin Pathol 1992 Feb; 45(2):125-9
16. Masood S, Dee S, Goldstein JD. Immunocytochemical analysis of progesterone receptors in breast cancer. Am J Clin Pathol 1991 Jul; 96(1): 59-63
17. Ruangwejworachai P, Sampatanukul P. Comparison of immunohistochemical staining for hormone receptors and Ki-67 between frozen section and formalin-fixed, paraffin-embedded sections. Department of Pathology, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University (in manuscript)
18. Marchetti E, Bagni A, Querzoli P, Durante E, Marzola A, Fabris G, Nenci I. Immunocytochemical detection of estrogen receptors by staining with monoclonal antibodies on cytologic specimens of human breast cancer. Acta Cytologica 1988 Nov-Dec; 32(6): 829-34
19. Coombes RC, Berger U, McCleland RA, Wilson P, Gazet JC, Trott PA, Ford HT. Prediction of endocrine response in breast cancer by immunocytochemical detection of oestrogen receptor in fine-needle aspirates. Lancet 1987; 2:701
20. McClelland RA, Berger LS, Powles TJ, Miller LS, Jensen EV, Coomes RC. Immunocytochemical assay for estrogen receptor : Relationship to outcome of therapy in patients with advanced breast cancer. Cancer Res 1986 Aug; 46(8 Suppl): 4241s - 4243s
21. Sampatanukul P, Wannakrairot P, Chatamra K, Ruangwejworachai P. A study of hormone receptors and proliferationg index in breast carcinoma. Seventh National Congress of Pathology. Ruenkaew : Bangkok, 1995: 58
22. Bouzubar N, Walker KJ, Griffiths K, Ellis IO, Elston CW, Robertson JF, Blamey RW, Nicholson RI. Ki-67 immunostaining in primary breast cancer: pathological and clinical associations. Br J Cancer 1989 Jun; 59(6):943-7