

ประโยชน์ของการศึกษาอิมมูโนฮิสโตเคมี ในทางพยาธิวิทยา

อุณาพร ตรงสกุล วท.บ. ชีววิทยา*

สุจิตรา ตันทวนิช วท.ม. พยาธิชีววิทยา*

ศิริวรรณ ตั้งจิตกมล ภ.บ., พ.บ., ว.ว. พยาธิวิทยากายวิภาค, ว.ว. สุนัขศาสตร์-นรีเวชวิทยา*

บทคัดย่อ

อิมมูโนฮิสโตเคมีเป็นวิธีการย้อมพิเศษเพื่อศึกษาชนิดของสารก่อภูมิคุ้มกันที่อยู่นบนเซลล์หรือเนื้อเยื่อต่าง ๆ ใช้หลักการจับกันของสารภูมิคุ้มกัน (antibodies) กับสารก่อภูมิคุ้มกัน (antigens) ตรวจสอบได้จากการเกิดปฏิกิริยาทางเคมีของสารสี (chromogen solution) โดยมีเอนไซม์เป็นตัวเร่งการเกิดปฏิกิริยา โดยจะปรากฏสีตรงบริเวณที่มีความเฉพาะเจาะจงต่อกันภายในเซลล์ ประโยชน์ของการย้อมพิเศษทางอิมมูโนฮิสโตเคมี คือ ใช้ในการบ่งบอกเนื้อเยื่อต้นกำเนิดของมะเร็ง จำแนกชนิดของเนื้องอก ช่วยในการตรวจหาหรือยืนยันจุดพยาธิสภาพของการแพร่กระจายของมะเร็งที่มีขนาดเล็ก ใช้เป็นปัจจัยบ่งบอกการพยากรณ์โรค และช่วยในการตรวจหาหรือยืนยันชนิดของเชื้อโรค ถึงแม้ว่าแพทย์ทางคลินิกผู้ดูแลรักษาผู้ป่วยซึ่งเป็นผู้ที่ส่งชิ้นเนื้อมาตรวจทางพยาธิวิทยานั้นจะมีความจำเป็นที่จะต้องมีความรู้พิเศษเกี่ยวกับการย้อมพิเศษทางอิมมูโนฮิสโตเคมีเหล่านี้โดยละเอียด แต่ความรู้เบื้องต้นของชนิดหรือวิธีการย้อมต่าง ๆ ทางอิมมูโนฮิสโตเคมีเหล่านี้จะช่วยให้แพทย์เหล่านั้นเข้าใจถึงงานของพยาธิแพทย์และมีความรู้ที่จะปรึกษาพยาธิแพทย์เพื่อนำวิธีการย้อมพิเศษต่าง ๆ เหล่านี้มาใช้ ทั้งนี้เพื่อประโยชน์สูงสุดในการวินิจฉัยโรคและดูแลผู้ป่วยให้มีประสิทธิภาพสูงต่อไป

Abstract

Use of Immunohistochemical Study in Pathology

Unaporn Trongsakul BSc (Biology)

Sujitra Tanvanich MSc (Pathobiology)

Siriwan Tangjitgamol MD

Department of Anatomical Pathology

BMA Medical College and Vajira Hospital

* ภาควิชาพยาธิวิทยากายวิภาค วิทยาลัยแพทยศาสตร์กรุงเทพมหานครและวชิรพยาบาล

Immunohistochemistry is the application of immunologic technique used to determine types of antigen in cells or tissue structure. The staining is based on the principle of antigen-antibody binding compound. This compound could be detected by a catalytic chemical reaction of chromogen, producing specific color at specific cellular location. Used of immunohistochemical stain are: to detect the cancer cell origins, to classify the tumors, to demonstrate micrometastatic cancer cells, as a prognostic indicator and to identify microorganisms. Although the physicians who submit a tissue for histologic diagnosis do not require extensive knowledge on immunohistochemistry, basic information of the technique would help them understand the complicated pathological work. Furthermore, the knowledge or familiarity on this special technique would certainly assist them to collaborate with pathologists in making use out of these various immunohistochemistry stainings to facilitate the diagnosis and optimal care for the patients.

Key words: Immunohistochemistry, diagnosis

บทนำ

ปัจจุบันวิธีการย้อมพิเศษทางอิมมูโนฮิสโตเคมี (immunohistochemistry) ถูกนำมาใช้ในห้องปฏิบัติการพยาธิวิทยาอย่างกว้างขวาง โดยมีประโยชน์ในการช่วยวินิจฉัยโรคจากเนื้อเยื่อที่ตัดออกมาตรวจในกรณีที่ไม่สามารถวินิจฉัยได้แน่นอนจากการศึกษาเนื้อเยื่อโดยวิธีการย้อมสี hematoxylin & eosin ที่ใช้ในการศึกษาตามปกติ เช่น ในโรคติดเชื้อ และมะเร็งหลายชนิดซึ่งมีรูปร่างเปลี่ยนไปจากปกติหรือมีการแพร่กระจายจากอวัยวะปฐมภูมิไปอวัยวะต่าง ๆ ก็จะทำให้แปลผลได้ยาก จึงจำเป็นต้องอาศัยการตรวจด้วยวิธีพิเศษนี้ เข้ามาช่วยเพื่อสามารถแปลผลได้ถูกต้องมากขึ้น นอกจากนี้วิธีการอิมมูโนฮิสโตเคมียังนำมาใช้ในการศึกษาเพื่อเป็นข้อมูลของการพยากรณ์โรค และทางเลือกในการรักษาโรคได้หลายชนิด เช่น มะเร็งเต้านม เป็นต้น ในรอบทศวรรษที่ผ่านมาวิทยาการแขนงนี้มีการพัฒนาไปอย่างรวดเร็ว เนื่องจากมีการค้นพบสารก่อภูมิคุ้มกัน (antigen) ตัวใหม่ ๆ ในเนื้อเยื่อ มีการพัฒนาสารที่มีความไวสำหรับการตรวจจับสารก่อภูมิคุ้มกันที่ดีขึ้น และมีการผลิตสารภูมิคุ้มกัน (antibody) ตัวใหม่ ๆ ซึ่งพัฒนาการเหล่านี้มีส่วนช่วยให้การวินิจฉัยทำได้รวดเร็ว ถูกต้องและแม่นยำมากขึ้น¹

อิมมูโนฮิสโตเคมีเป็นการศึกษาโดยใช้สารภูมิคุ้มกันที่มีความจำเพาะต่อการจับสารก่อภูมิคุ้มกันแต่ละชนิด ซึ่งสารก่อภูมิคุ้มกันอาจมีตำแหน่งอยู่บนผิวเซลล์ ภายในเซลล์หรือภายในนิวเคลียส และจะเป็นตัวที่บ่งบอกถึงลักษณะเฉพาะของเนื้อเยื่อหรือเชื้อโรคได้ เช่น สามารถใช้เป็นสารส่อมะเร็ง (tumor markers) ซึ่งจำแนกตามประเภทของส่วนประกอบทางเคมี ตรวจหาตัวรับของฮอร์โมน เอนไซม์ โปรตีน และยังสามารถใช้

ตรวจหาและยืนยันชนิดของแบคทีเรียหรือไวรัสชนิดต่าง ๆ เป็นต้น ส่วนใหญ่นิยมใช้สารส่อมะเร็งหลายตัวมาย้อมพิเศษร่วมกัน²

เทคนิคของการย้อมพิเศษทางอิมมูโนฮิสโตเคมี

ในปัจจุบันวิธีการที่สารก่อภูมิคุ้มกันต้านทานจะไปทำปฏิกิริยากับสารภูมิคุ้มกันต้านทานมีหลายวิธี ซึ่งเทคนิคเหล่านี้ได้พัฒนามาเป็นลำดับในที่นี้จะกล่าวถึงวิธีการต่าง ๆ โดยสังเขป ดังนี้

1. Direct method

เป็นวิธีที่ง่ายและใช้เวลาน้อยที่สุด โดยการใช้สารภูมิคุ้มกันต้านทานปฐมภูมิทำปฏิกิริยากับสารก่อภูมิคุ้มกันต้านทานโดยตรง แต่วิธีนี้มีความไวในการตรวจจับ (sensitivity) ต่ำทำให้ไม่เป็นที่นิยมใช้ในปัจจุบัน

2. Indirect method

โดยการใช้สารภูมิคุ้มกันต้านทานปฐมภูมิเข้าไปทำปฏิกิริยากับสารก่อภูมิคุ้มกันต้านทานก่อน แล้วตามด้วยสารภูมิคุ้มกันต้านทานทุติยภูมิที่สามารถจับกับสารภูมิคุ้มกันต้านทานปฐมภูมิ โดยที่สารภูมิคุ้มกันต้านทานทุติยภูมิจะจับคู่กับเอนไซม์อีกต่อหนึ่งซึ่งจะทำให้วิธีนี้มีความไวในการตรวจจับดีกว่าวิธีแรกแต่ยังอยู่ในเกณฑ์ต่ำและมีขั้นตอนที่ยุ่งยากกว่า ทำให้ไม่เป็นที่นิยมใช้ในปัจจุบันเช่นกัน

3. Unlabelled antibody method

เป็นการใช้สารภูมิคุ้มกันต้านทานทุติยภูมิเป็นสะพานเชื่อมระหว่างสารภูมิคุ้มกันต้านทานปฐมภูมิกับสารภูมิคุ้มกันต้านทานตติยภูมิที่มีเอนไซม์จับคู่อยู่ วิธีการนี้ได้แก่ peroxidase antiperoxidase complex (PAP), alkaline phosphatase anti-alkaline phosphatase complex (APAAP) วิธีนี้มีความไวในการตรวจจับสูงกว่า 2 วิธีแรกแต่มีความยุ่งยากในขั้นตอนการสร้างสะพานเชื่อมเพราะต้องใช้สารที่จะทำปฏิกิริยาในปริมาณที่มากเกินไป (excess) ทำให้ไม่สะดวกในทางปฏิบัติ

4. Avidin-biotin technology

เป็นวิธีการที่อาศัยคุณสมบัติในการจับตัวกันของโปรตีน avidin และ biotin ที่มีอยู่ในเนื้อเยื่อโดยที่โปรตีนทั้งสองชนิดนี้จะยึดตัวกันอย่างแน่นหนาและจำเพาะเจาะจง โดยจะใช้สาร biotin จับคู่กับสารภูมิคุ้มกันทางอ้อม และสร้าง avidin-biotin enzyme complex เพื่อใช้แทน PAP หรือ APAAP complex แต่เนื่องจากสาร avidin จะทำให้เกิดการติดสีที่ไม่เฉพาะเจาะจง (nonspecific staining) ดังนั้นในภายหลังจึงนิยมใช้สาร streptavidin แทน

5. Chain polymer-conjugate technology

เป็นวิธีการล่าสุดที่เริ่มมีการใช้มากขึ้น รวมทั้งที่ภาควิชาพยาธิวิทยาภาควิชา วิทยาลัยแพทยศาสตร์กรุงเทพมหานครและวชิรพยาบาล เป็นเทคนิคที่ใช้เอนไซม์ horseradish peroxidase และสารภูมิคุ้มกันทั้งปฐมภูมิและทุติยภูมิมาติดบน spine molecule ของ dextran วิธีนี้ช่วยเพิ่มความไวในการตรวจจับ มีความแม่นยำ ลดระยะเวลาและขั้นตอนในการย้อมอิมมูโนฮิสโตเคมีได้เป็นอย่างดี

ประโยชน์ของการย้อมพิเศษทางอิมมูโนฮิสโตเคมี

ประโยชน์หรือข้อบ่งชี้ของการย้อมพิเศษทางอิมมูโนฮิสโตเคมีในงานพยาธิวิทยาและคลินิก มีดังนี้¹

1. ใช้ในการบ่งบอกเนื้อเยื่อต้นกำเนิดของมะเร็ง (to indicate the origin of cancer)

ช่วยให้แยกได้ว่าเนื้องอกชนิดนั้นมีพยาธิกำเนิดมาจากอวัยวะใด เช่น Prostate-Specific Antigen (PSA) จากต่อมลูกหมาก (prostate gland), thyroglobulin จากต่อมไทรอยด์ (thyroid gland)⁵ เป็นต้น ตัวอย่างการใช้อิมมูโนฮิสโตเคมีเพื่อช่วยบ่งบอกเนื้อเยื่อต้นกำเนิดของเนื้องอกชนิดต่าง ๆ แสดงในตารางที่ 1

2. ใช้ในการจำแนกชนิดของเนื้องอก (as tumor marker for classification of tumor)

ช่วยในการวินิจฉัยโรคและจำแนกชนิดของเนื้องอกให้ถูกต้องแม่นยำมากขึ้นในกรณีต่าง ๆ คือ ในรายที่ลักษณะทางจุลพยาธิสภาพไม่ชัดเจน การย้อมอิมมูโนฮิสโตเคมีจะช่วยแยกชนิดของเซลล์ได้ (ตารางที่ 2) ในกรณีที่ลักษณะจุลพยาธิสภาพเหมือนกันทั้งที่มีต้นกำเนิดจากเซลล์ต่างชนิดกันซึ่งจะนำไปสู่วิธีการรักษาที่แตกต่าง เช่น adenocarcinoma และ monophasic mesothelioma (ตารางที่ 3)

ในกรณีเนื้องอกที่มีต้นกำเนิดจากเซลล์ชนิดเดียวกัน แต่เจริญเติบโตไปเป็นเนื้องอกต่างชนิดกันหรือต่างสถานภาพความเป็นมะเร็งซึ่งจะทำให้การพยากรณ์โรคและการรักษามีความแตกต่างกัน อาจแยกโดยการย้อมอิมมูโนฮิสโตเคมีชนิดต่าง ๆ กัน เช่น การใช้ Ber-EP ช่วยแยก actinic keratosis และ squamous intraepithelial neoplasia รวมทั้ง squamous cell carcinoma ออกจาก superficial basal cell carcinoma เป็นต้น⁶ หรือเนื้องอกจากระบบเยื่อหุ้มประสาทส่วนปลาย (nerve sheath tumors) ที่อาจเจริญเติบโตไปเป็นเนื้องอกต่างชนิดกัน (ตารางที่ 4)

ตัวอย่างของสารมะเร็งที่ใช้บ่อย เช่น ระบบ CD system ที่เป็น surface markers ของเซลล์แต่ละชนิด เช่น การย้อม CD20, CD3, CD45R0, CD15, CD30 และ CD45 ในการแยกประเภทของมะเร็งปอดน้ำเหลือง (lymphoma)⁷ หรือใช้ cytokeratin เช่น CK7, CK8, CK19 หรือ CK20 สำหรับแยกชนิดของ adenocarcinoma ว่ามีต้นกำเนิดมาจากระบบอวัยวะสืบพันธุ์สตรีหรือระบบทางเดินอาหาร นอกจากนั้นยังใช้ในการจำแนกมะเร็งกระเพาะอาหารตามระบบใหม่ (new gastric carcinoma classification system) ที่เรียกว่า Goseki classification ซึ่งจะแบ่งมะเร็งออกเป็นระดับ (grade) ต่าง ๆ ด้วยการย้อมพิเศษทางอิมมูโนฮิสโตเคมีซึ่งอาศัยหลักการติดสีที่ต่างกันของเซลล์ เป็นต้น

3. ช่วยในการตรวจหาหรือยืนยันจุลพยาธิสภาพของการแพร่กระจายของมะเร็งที่มีขนาดเล็ก (demonstration of micrometastatic cancer cells)

ตารางที่ 1 ตัวอย่างชนิดของ intermediate filaments ที่มีความจำเพาะเจาะจงกับเนื้องอกที่มีต้นกำเนิดจากเนื้อเยื่อที่แตกต่างกัน

Intermediate filament	เซลล์ต้นกำเนิด	ชนิดของเนื้อเยื่อ
Cytokeratin	เซลล์เนื้อเยื่อบุผิว	มะเร็งเยื่อ มะเร็งเยื่อหุ้มปอด
Vimentin	เซลล์ที่มีต้นกำเนิดจาก ชั้นมีโซเดิร์ม	เนื้องอกของเซลล์มีเซนไคมา (mesenchyma)
Desmin	เซลล์กล้ามเนื้อ	เนื้องอกของกล้ามเนื้อเรียบและเนื้องอกของกล้ามเนื้อลาย
Neurofilament	เซลล์ประสาท	เนื้องอกของระบบประสาท

micrometastasis คือ การแพร่กระจายของมะเร็งที่กระจายไปยังอวัยวะส่วนใดส่วนหนึ่งรวมถึงเซลล์มะเร็งที่ไหลเวียนไปในกระแสเลือด ซึ่งยังมีขนาดเล็กมากจนไม่สามารถตรวจสอบได้ทางคลินิก เช่น การตรวจร่างกาย การถ่ายภาพรังสี การตรวจด้วยเครื่องเสียงความถี่สูง หรือ แม้แต่การตรวจทางจุลพยาธิสภาพที่อาจตรวจไม่พบจากวิธีการย้อมปกติโดยสี hematoxylin & eosin เมื่อนำชิ้นเนื้อมาย้อมพิเศษทางอิมมูโนฮิสโตเคมีแล้วจะสามารถเห็น micrometastasis ของเซลล์มะเร็งได้ชัดเจนขึ้น เช่น สามารถตรวจพบการแพร่กระจายของเซลล์มะเร็งมาต่อมน้ำเหลืองในมะเร็งถุงน้ำดี⁹ มะเร็งเต้านม¹⁰ มะเร็งลำไส้¹¹ มะเร็งกระเพาะอาหาร¹² มะเร็งหลอดอาหาร¹³ หรือตรวจพบการแพร่กระจายของมะเร็งอวัยวะ¹⁴ และมะเร็งเต้านม¹⁵ มายังกระดูกสันหลัง เป็นต้น ซึ่งการตรวจพบ micrometastasis นี้จะมีผลกับพยากรณ์โรคและแผนการรักษาต่อไป

4. ใช้เป็นปัจจัยบ่งบอกการพยากรณ์โรค (as a prognostic indicator)

จากความก้าวหน้าทาง cytogenetic ทำให้ทราบว่าสาเหตุหนึ่งของการเกิดเนื้องอกเป็นผลมาจากความผิดปกติของ oncogene ซึ่งพบมากในเนื้องอกบางชนิด เช่น HER-2 หรือ p-53 โดยสามารถนำมาใช้เป็นสารสื่อมะเร็งและใช้พิจารณาเลือกวิธีการรักษารวมทั้งพยากรณ์โรคในมะเร็งเต้านมอย่างกว้างขวาง รวมถึง estrogen receptor (ER), progesterone receptor (PR) และ androgen receptor (AR) ซึ่งนอกจากใช้เป็นสารสื่อมะเร็ง สำหรับมะเร็งเต้านมแล้วยังใช้ในการช่วยวินิจฉัย malignancy of multiple endocrine organs นอกจากนั้น Ki-67 หรือ proliferative index สามารถพยากรณ์โรคมะเร็งได้โดยบ่งบอกถึงความรุนแรง (aggressiveness) ของมะเร็งที่มีการติดสี เป็นต้น^{8,16,17}

5. ช่วยในการตรวจหาหรือยืนยันชนิดของเชื้อโรค (identification of microorganism)

การศึกษาทางอิมมูโนฮิสโตเคมี สามารถช่วยยืนยันถึงการติดเชื้อไวรัส แบคทีเรีย เชื้อรา และปรสิตที่เป็นสาเหตุของโรคต่าง ๆ ได้จากการตรวจหาสารก่อภูมิคุ้มกัน เช่น Hepatitis C virus¹⁸, Herpes virus¹⁹ ส่วนปรสิต เช่น Plasmodium ซึ่งก่อให้เกิดโรคมาลาเรีย สามารถแยกชนิดได้โดย การย้อม histidine rich protein-2 (HRP-2) ซึ่งมีความจำเพาะกับ Plasmodium falciparum หรือ การย้อม aldolase และ Plasmodium lactate dehydrogenase (pLDH) ซึ่งมีความจำเพาะกับ Plasmodium vivax²⁰ เป็นต้น

ตัวอย่างชนิดของสารก่อภูมิคุ้มกันต้านทานและสารภูมิคุ้มกันต้านทานที่สำคัญซึ่งนิยมใช้ในการศึกษาอิมมูโนฮิสโตเคมี²¹

1. Carcino-embryonic antigen (CEA)

เป็นไกลโคโปรตีน น้ำหนักโมเลกุล 200 กิโลดาลตัน พบในเซลล์ของทารกในครรภ์ โดยเฉพาะใน mucin-secreting glandular tissue พบได้บ้างในเซลล์ผู้ใหญ่ และจะมีการเพิ่มปริมาณเป็นจำนวนมากใน carcinomas โดยเฉพาะ adenocarcinomas ของอวัยวะในระบบทางเดินอาหาร (gastrointestinal tract) รวมไปถึงมะเร็งตับอ่อน มะเร็งปอด และ medullary carcinoma ของต่อมไทรอยด์

2. Cytokeratin

Cytokeratin หรือ keratin เป็นโปรตีนเส้นใย (fibrous protein) ที่ส่วนใหญ่พบในเซลล์เนื้อเยื่อผิว (epithelial cell) มีอยู่ประมาณ 20 subtypes แบ่งตามน้ำหนักโมเลกุลและ isoelectric pH โดยเนื้อเยื่อผิวแต่ละชนิดจะพบ keratin subtype ที่ต่างกันออกไป จึงสามารถใช้ในการจำแนกชนิดของเนื้องอกของเนื้อเยื่อผิวได้

3. Desmin

เป็น intermediate filament น้ำหนักโมเลกุล 55 กิโลดาลตัน พบที่กล้ามเนื้อเรียบและกล้ามเนื้อลาย รวมทั้งใน myofibroblasts ด้วยโดยเฉพาะอย่างยิ่งใน parenchymal smooth muscle ใช้เป็นสารสื่อมะเร็งสำหรับเซลล์กล้ามเนื้อ มะเร็งกล้ามเนื้อเรียบและมะเร็งกล้ามเนื้อลาย

4. Epithelial membrane antigen (EMA)

เป็นไกลโคโปรตีนที่ปรากฏบน apical luminal membrane ของ exocrine glandular epithelial cells บ่งบอกว่าเซลล์มีต้นกำเนิดจากเยื่อผิว ใช้ในการช่วยแยกแยะระหว่างมะเร็งชนิด anaplastic carcinoma กับ malignant lymphomas หรือ ช่วยในการยืนยัน epithelial malignancies with spindle cell transformation เป็นต้น

5. Glial fibrillary acid protein (GFAP)

เป็น intermediate filament น้ำหนักโมเลกุล 48-52 กิโลดาลตัน พบใน glial cells ของเนื้อเยื่อสมอง และ เซลล์สมองชนิด astrocytes แบบ reactive หรือ neoplastic cells

6. Hormone receptors

Monoclonal antibody ที่นำมาใช้กันมาก ได้แก่ estrogen, progesterone และ androgen receptors ช่วยบ่งชี้ถึงต้นกำเนิดของอวัยวะที่เกิดการแพร่กระจายของมะเร็งได้ และยังใช้เป็นตัวทำนายของการตอบสนองของมะเร็งต่อการรักษาด้วยฮอร์โมน (hormonal therapy) ได้ด้วย

ตารางที่ 2 มะเร็งเยื่อหุ้มผิวหนังชนิดต่างๆ และการติดสีของ intermediate filaments

ชนิดของเนื้องอก	Intermediate filaments
Adenocarcinoma	EMA (membrane, cytoplasmic and intracytoplasmic lumen) CK 8, CK 18
Squamous cell carcinoma	EMA (cytoplasmic) CK 10, CK 13
Transitional cell carcinoma	CK 8, CK 18, CK 7

Abbreviations: CK = cytokeratin; EMA = epithelial membrane antigen

ตารางที่ 3 Intermediate filaments ที่นำมาใช้แยกมะเร็งชนิด adenocarcinoma และ mesothelioma

Marker	Adenocarcinoma	Mesothelioma
Keratin	+	+
EMA	+	+
CEA	+	-
B 72.3	+	-
CD15	+	-
Ber-EP4	+	-
ME1	-	+

Abbreviations: EP = human epithelial antigen; CD = cluster designation; CEA = carcinoembryonic antigen; EMA = epithelial membrane antigen; ME = myoepithelial

ตารางที่ 4 การจำแนกชนิดของเนื้องอกจากระบบเยื่อหุ้มประสาทส่วนปลาย (nerve sheath tumors) โดยการย้อมพิเศษอิมมูโนฮิสโตเคมีชนิดต่างๆ

Tumors	S-100	Neurofilament	GFAP
Neurofibroma	+	+	+/-
Schwannoma, benign	+	-	+/-
Schwannoma, malignant	+/-	-	+/-
Nerve sheath myxoma	+	-	NA
Granular cell tumor	+	-	-

Abbreviations: GFAP = glial fibrillary acidic protein; NA = no available data; S-100 = Svedberg-100

7. Ki-67

เป็นสารก่อภูมิต้านทานที่พบในเซลล์ที่กำลังแบ่งตัว จึงสามารถใช้ตรวจสอบการเจริญเติบโตของเซลล์และอัตราความก้าวหน้าของเนื้องอกได้ดี และนำมาใช้เป็นตัวพยากรณ์โรค โดยเซลล์ที่มีนิวเคลียสติดสีมักจะแสดงว่ามะเร็งนั้น ๆ มีความรุนแรงและมีการดำเนินของโรคค่อนข้างเร็ว

8. Prostate-specific antigen (PSA)

เป็นสารก่อภูมิต้านทานที่สกัดจากต่อมลูกหมาก มีน้ำหนักโมเลกุล 33 กิโลดาลตัน มีความจำเพาะกับเนื้อเยื่อต่อมลูกหมากทั้งที่เป็นเนื้อเยื่อปกติ เนื้อเยื่อที่มีการเจริญมากกว่าปกติและเนื้องอกรวมทั้งมะเร็ง

9. S-100

เป็นโปรตีนที่มีฤทธิ์เป็นกรดมารวมตัวกับแคลเซียม (acidic dimeric calcium-binding protein) น้ำหนักโมเลกุล 21 กิโลดาลตัน พบได้ทั้งในนิวเคลียสและไซโตพลาสซึมของ glial cells ในเนื้อเยื่อสมอง Schwann cells ในเนื้อเยื่อประสาท (neural tissue) melanocytes, chondrocytes, lipocytes และ myo-epithelial cells รวมทั้งเนื้องอกที่เจริญมาจากเนื้อเยื่อส่วนต่าง ๆ ดังกล่าวข้างต้น จึงใช้ในการแยกเนื้องอกชนิดต่าง ๆ ได้

10. Thyroglobulin

สกัดจากต่อมไทรอยด์ มีน้ำหนักโมเลกุล 670 กิโลดาลตัน มีความจำเพาะกับเนื้อเยื่อของต่อมไทรอยด์ จึงใช้ในการวินิจฉัยเนื้องอกที่มีต้นกำเนิดจากต่อมไทรอยด์ได้

11. Vimentin

เป็น intermediate filament น้ำหนักโมเลกุล 57 กิโลดาลตัน พบในเซลล์ของเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน (connective tissue หรือ mesenchyme) เช่น fibroblasts มีความจำเพาะต่ำ เนื่องจาก vimentin สามารถแสดงออกทั้งในเนื้องอกจาก mesenchymal tissue หรือเนื้องอกที่เจริญมาจากเนื้อเยื่อผิวหนังหรือเนื้อเยื่อระบบประสาทได้

สรุป

การศึกษาอิมมูโนฮิสโตเคมี เป็นเครื่องมือที่ช่วยในการวินิจฉัยพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อ ในกรณีที่การแปลผลทางจุลพยาธิสภาพจากการย้อมสี hematoxylin & eosin ไม่ชัดเจน โดยที่สามารถเลือกใช้สารส้อมะเร็งให้เหมาะสมกับรอยโรค พยาธิสภาพและสิ่งที่ต้องการศึกษา พยาธิแพทย์อาจใช้วิธีย้อมพิเศษทางอิมมูโนฮิสโตเคมี

ด้วยสารส้อมะเร็งเพียงชนิดเดียวหรือหลายชนิดแล้วนำผลที่ได้มาประกอบกัน อย่างไรก็ตามแม้ว่าการศึกษาทางอิมมูโนฮิสโตเคมีจะมีประโยชน์หลากหลาย ทั้งพยาธิแพทย์และแพทย์ผู้ดูแลผู้ป่วยควรคำนึงถึงข้อจำกัดว่าไม่มีสารส้อมะเร็งตัวใดหรือชุดใดที่จะมีความไวหรือความจำเพาะสูงสุด ดังนั้นการแปลผลของการย้อมด้วยวิธีอิมมูโนฮิสโตเคมีจึงจำเป็นต้องมีข้อมูลอื่น ๆ ประกอบ ได้แก่ การตรวจลักษณะจุลพยาธิสภาพจากการย้อมสี hematoxylin & eosin ข้อมูลทางคลินิกและการตรวจทางห้องปฏิบัติการอื่น ๆ จึงจะเกิดประโยชน์สูงสุด

เอกสารอ้างอิง

1. Ramos-Vara JA. Technical Aspects of Immunohistochemistry. Vet Pathol 2005; 42: 405-26.
2. Bhan AK. Diagnostic strategies based on differentiation antigens. In: Colvin RB, Bhan AK, McCluskey RT, editors. Diagnostic immunopathology. 2nd ed. New York: Raven Press; 1995. p. 455-78.
3. Miller K. Immunocytochemical techniques. In: Bancroft JD, Gamble M, editors. Theory and practice of histological techniques. 5th ed. London: Churchill Livingstone; 2002. p. 421-64.
4. Chan JK. Advances in immuno histochemistry: impact on surgical pathology practice. Semin Diagn Pathol 2000; 17: 170-7.
5. Dennis JL, Hvidsten TR, Wit EC, Komorowski J, Bell AK, Downie I, et al. Markers of adenocarcinoma characteristic of the site of origin: development of a diagnostic algorithm. Clin Cancer Res 2005; 11: 3766-72.
6. Tope WD, Nowfar-Rad M, Kist DA. Ber-EP4-positive phenotype differentiates actinic keratosis from superficial basal cell carcinoma. Dermatol Surg 2000; 26: 415-8.
7. Mason DY, Biberfeld PJ. Technical aspects of lymphoma immunohistology. Histochem Cytochem 1980; 28: 731-45.

8. Gürbüz Y, Köse N. Cytokeratin expression patterns of gastric carcinomas according to Lauren and Goseki classification. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2006; 14: 303–8.
9. Tajima Y, Tomioka T, Ikematsu Y, Ichinose K, Inoue K, Kanematsu T. Immunohistochemical demonstration of cytokeratin is useful for detecting micrometastatic foci from gallbladder carcinoma in regional lymph nodes. *Jpn J Clin Oncol* 1999; 29: 425–8.
10. Chandler IP, Oommen R, Lawson CW. Invasive lobular carcinoma and cytokeratin immunohistochemistry: an audit. *J Clin Pathol* 2003; 56: 240.
11. Shimoyama M, Yamazaki T, Suda T, Hatakeyama K. Prognostic significance of lateral lymph node micrometastases in lower rectal cancer. *Dis Colon Rectum* 2003; 46: 333–9.
12. Uenosono Y, Natsugoe S, Ehi K, Arigami T, Hokita S, Aikou T. Detection of sentinel nodes and micrometastases using radioisotope navigation and immunohistochemistry in patients with gastric cancer. *Br J Surg* 2005; 92: 886–9.
13. Natsugoe S, Mueller J, Stein HJ, Feith M, Höfler H, Siewert JR. Micrometastasis and tumor cell microinvolvement of lymph nodes from esophageal squamous cell carcinoma. *Cancer* 2000; 83: 858–66.
14. Cher ML, De Oliveira JG, Beaman AA, Nemeth JA, Hussain M, Wood DP Jr. Cellular proliferation and prevalence of micrometastatic cells in the bone marrow of patients with clinically localized prostate cancer. *Clin Cancer Res* 1995; 5: 2421–5.
15. Vincent-Salomon A, Pierga JY, Couturier J, d'Enghien CD, Nos C, Sigal-Zafrani B, et al. HER2 status of bone marrow micrometastasis and their corresponding primary tumours in a pilot study of 27 cases: a possible tool for anti-HER2 therapy management. *Br J Cancer* 2007; 96: 654–9.
16. Lee P, Rosen DG, Zhu C, Silva EG, Liu J. Expression of progesterone receptor is a favorable prognostic marker in ovarian cancer. *Gynecol Oncol* 2005; 96: 671–7.
17. Marks JR, Humphrey PA, Wu K, Berry D, Bandareko N, Kerns BJ, et al. Overexpression of p53 and HER's-2/neu proteins as prognostic markers in early stage breast cancer. *Ann Surg* 1994; 219: 332–41.
18. Boyd AS, Nanney LB, King LE. Immunoperoxidase evaluation of lichen planus biopsies for hepatitis C virus. *Int J Dermatol* 1998; 37: 260–2.
19. Patel RM, Goldblum JR, His ED. Immunohistochemical detection of human herpes virus-8 latent nuclear antigen-1 is useful in the diagnosis of Kaposi sarcoma. *Mod Pathol* 2004; 17: 456–60.
20. Genrich GL, Guarner J, Paddock CD, Shieh WJ, Greer PW, Barnwell JW, et al. Fatal malaria infection in travelers: novel immunohistochemical assays for the detection of *Plasmodium falciparum* in tissues and implications for pathogenesis. *Am J Trop Med Hyg* 2007; 76: 251–9.
21. Rosai J. Special techniques in surgical pathology. In: Rosai, editor. *Rosai and Ackerman's surgical pathology*. 9th ed. St. Louis: Mosby; 2004. p. 37–91.