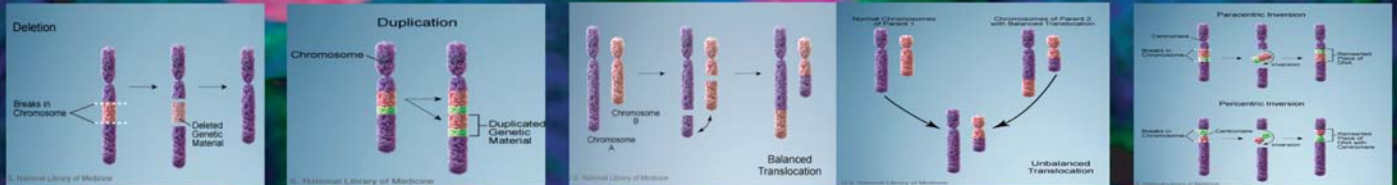


มะเร็งเต้านม (Breast Cancer)

เทคนิค FISH (Fluorescence in situ hybridization)

เป็นวิธีการตรวจทางห้องปฏิบัติการสำหรับการตรวจหาความผิดปกติของโครโมโซม โดยใช้ DNA หรือ RNA ที่มีความจำเพาะต่อยีนเป้าหมาย มาติดฉลากด้วยสารเรืองแสง (Fluorophores) แล้วนำมาตรวจวิเคราะห์โดยใช้กล้องจุลทรรศน์ชนิดฟลูออเรสเซนซ์จะทำให้สามารถตรวจการขาดหายไปของยีนหรือโครโมโซม (deletion), การเพิ่มขึ้นของยีนหรือแท่งโครโมโซม (duplication), การย้ายชิ้นส่วนของยีน หรือโครโมโซม (translocation) และการพลิกกลับของโครโมโซม (inversion)



การขาดหายไปของยีนหรือโครโมโซม (deletion)

การเพิ่มขึ้นของยีนหรือแท่งโครโมโซม (duplication)

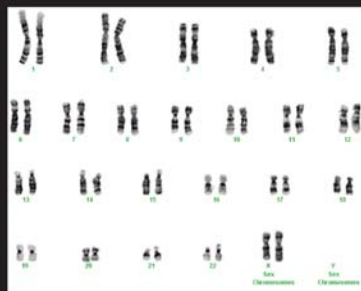
ย้ายชิ้นส่วนของยีน หรือโครโมโซม (translocation)

การพลิกกลับของโครโมโซม (inversion)

หน่วยมนุษย์พันธุศาสตร์ เป็นหน่วยงานที่มีความสามารถในการตรวจหาความผิดปกติของโครโมโซมที่เชื่อมด้วย เทคนิคต่างๆ เช่น เทคนิค G-banding, NOR-band, Q-banding และ FISH นอกจากนี้หน่วยมนุษย์พันธุศาสตร์ยังได้รับการรับรองคุณภาพตามมาตรฐานสากล ISO 15189 เป็นแห่งแรกของประเทศไทย สำหรับการตรวจหาความผิดปกติโครโมโซมของการตั้งครรภ์ (prenatal diagnosis), ผู้ป่วยโรคพันธุกรรม (genetic disorder) และผู้ป่วยโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาว (leukemia) ตลอดจนการตรวจหาการเพิ่มจำนวนของยีน HER-2/neu ในผู้ป่วยโรคมะเร็งเต้านมด้วยเทคนิค FISH

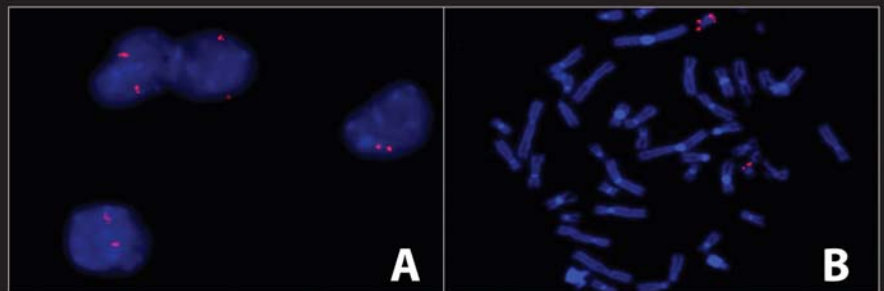
การตรวจวิเคราะห์โครโมโซมของการตั้งครรภ์มารดาก่อนคลอด (Prenatal chromosome analysis) โดย

1. เทคนิค G-banding



2. เทคนิค FISH สำหรับการตรวจโครโมโซมแท่งที่ 13 เซลล์ในระยะอินเตอร์เฟส

และเมตาเฟส สัญญาณแสงสีแดงแทนตำแหน่ง 13q14 (LSI 13)



(A) การตรวจโครโมโซมแท่งที่ 13 เซลล์ในระยะอินเตอร์เฟส

(B) การตรวจโครโมโซมแท่งที่ 13 เซลล์ในระยะเมตาเฟส โดยเทคนิค FISH

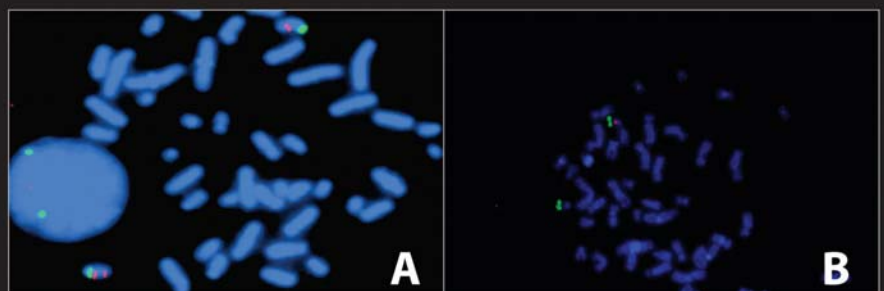
การตรวจวิเคราะห์โรคพันธุกรรม

1. เทคนิค G-banding



2. เทคนิค FISH สำหรับการตรวจโครโมโซมในระยะเมตาเฟส

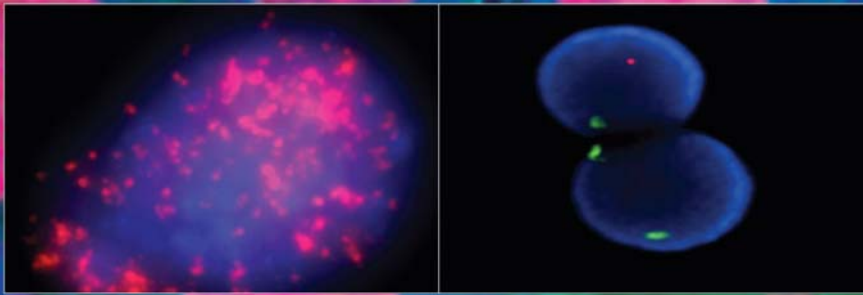
ในผู้ป่วยกลุ่มอาการ Prader-Willi syndrome, DiGeorge syndrome



(A) ผู้ป่วยกลุ่มอาการ prader-willi syndrome สัญญาณแสงสีเขียวแทนตำแหน่ง 15p11.2 (D15Z1) และสัญญาณแสงสีแดงแทนตำแหน่ง 15q11-q13 (D15S10)

(B) ผู้ป่วยกลุ่มอาการ DiGeorge syndrome สัญญาณแสงสีเขียวแทนตำแหน่ง 22q13.3 และสัญญาณแสงสีแดงแทนตำแหน่ง 22q11.2

3. เทคนิค FISH สำหรับการตรวจโครโมโซมในระยะอินเตอร์เฟส ในผู้ป่วย neuroblastoma และผู้ป่วยปลูกถ่ายไขกระดูก

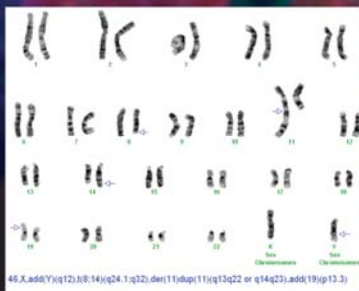


ผู้ป่วยที่มีความผิดปกติของ neuroblastoma สัญญาณแสงสีแดงแทนโครโมโซม บริเวณตำแหน่ง 2p24.1

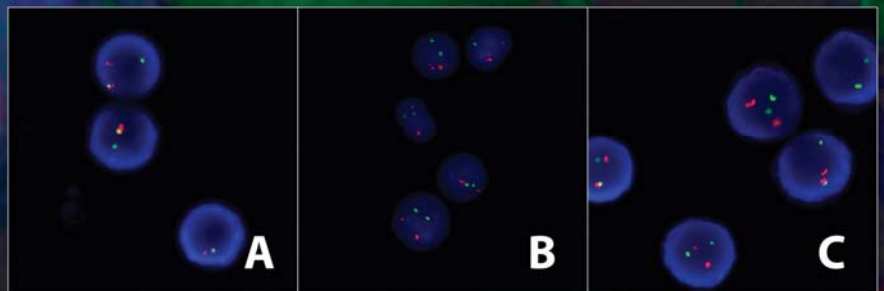
ผู้ป่วยที่ได้รับการปลูกถ่ายไขกระดูก สัญญาณแสงสีเขียวแทนโครโมโซม X และสัญญาณแสงสีแดงแทนโครโมโซม Y

การตรวจวิเคราะห์โรคเมะเร็งเม็ดเลือดขาว

1.เทคนิค G-banding



2.เทคนิค FISH สำหรับการตรวจโครโมโซมในระยะอินเตอร์เฟสในผู้ป่วยมะเร็งเม็ดเลือดขาว

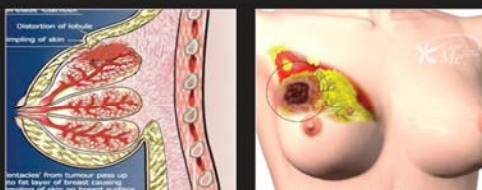


(A) ผลการตรวจด้วยเทคนิค FISH ในผู้ป่วย t(9;22) BCR/ABL fusion gene โดยสัญญาณแสงสีเขียวแทนบริเวณตำแหน่ง 22q11.2 และสัญญาณแสงสีแดงแทนบริเวณตำแหน่ง 9q34

(B) ผลการตรวจด้วยเทคนิค FISH ในผู้ป่วย t(15;17) PML/RARA fusion gene โดยสัญญาณแสงสีเขียวแทนบริเวณตำแหน่ง 15q22 และสัญญาณแสงสีแดงแทนบริเวณตำแหน่ง 17q21.1

(C) ผลการตรวจด้วยเทคนิค FISH ในผู้ป่วย t(12;21) TEL/AML fusion gene โดยสัญญาณแสงสีเขียวแทนบริเวณตำแหน่ง 12q13 และสัญญาณแสงสีแดงแทนบริเวณตำแหน่ง 21q22

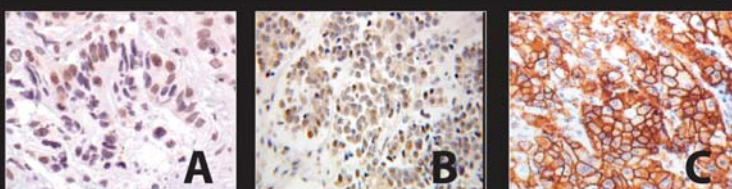
การวิเคราะห์ผู้ป่วยโรคเมะเร็งเต้านม



การตรวจหา HER-2/neu ในผู้ป่วยมะเร็งเต้านม โดยทั่วไปมี 2 วิธี คือ การย้อมโปรตีนด้วยเทคนิค IHC (immunohistochemistry) และการตรวจจำนวนยีนที่เพิ่มขึ้นโดยใช้เทคนิค FISH

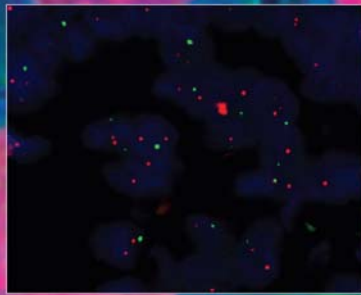
เทคนิค IHC เป็นวิธีการย้อมเพื่อดูการติดสีของโปรตีนบริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ โดยจำแนกตามความเข้มของสีได้เป็น 3 ระดับ คือ 1+ (ผลลบ), 2+ (ผลกำกวม) และ 3+ (ผลบวก) ซึ่งการย้อมด้วยเทคนิค IHC นี้ ในบางครั้งอาจให้ผลคลาดเคลื่อน โดยโปรตีนในเซลล์อาจมีการเปลี่ยนแปลงได้เมื่อเก็บไว้เป็นเวลานาน นอกจากนี้ในการย้อมที่ให้การทดสอบกำกวมทำให้ยากต่อการวิเคราะห์ ดังนั้นจึงมีการพัฒนาเทคนิค FISH เพื่อนำมาตรวจวิเคราะห์หาจำนวนชุดของยีน HER-2/neu ในเซลล์มะเร็งว่าผิดปกติอย่างไร เทคนิค FISH จะให้การตรวจที่ถูกต้องแม่นยำ เนื่องจากการตรวจนับจำนวนยีน HER-2 /neu ที่อยู่ในเซลล์โดยตรงซึ่งให้ผลที่แม่นยำมากกว่าการตรวจจากโปรตีนที่มีเสถียรภาพน้อยกว่า

การย้อมโปรตีนด้วยเทคนิค IHC (Immunohistochemistry)

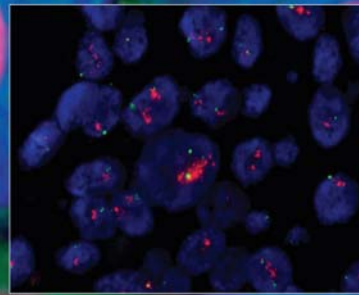


(A) IHC 1+ (ผลลบ)
(B) IHC 2+ (ผลกำกวม)
(C) IHC 3+ (ผลบวก)

การตรวจหาจำนวนยีนที่เพิ่มขึ้นโดยใช้เทคนิค FISH



No amplified of HER-2/neu (พลลบล)

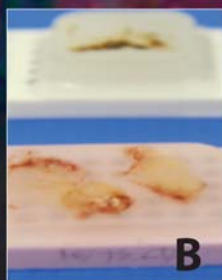


Amplified of HER-2/neu (พลบวก)

ยีน HER-2/neu อยู่ในโครโมโซมแขนยาวของโครโมโซมแท่งที่ 17 บริเวณ 17q12 จากรายงานวิจัยพบว่าประมาณ 25% ของผู้ป่วยมะเร็งเต้านมจะมีการเพิ่มจำนวนชุดของยีนนี้เป็นจำนวนมาก (> 6 ชุด/เซลล์) ซึ่งผู้ป่วยที่มีจำนวนยีน HER-2/neu เพิ่มขึ้นนี้ จะสามารถรักษาได้โดยใช้ยา Trastuzumab การตรวจหาจำนวนยีน HER-2/neu ในเซลล์จะตรวจโดยใช้เทคนิค FISH โดยเริ่มจากนำชิ้นเนื้อที่มีผลการตรวจด้วย IHC ให้ผลบวกหรือผลกำกวมมาตัดให้มีความหนาประมาณ 3-5 ไมครอน ด้วยเครื่อง microtome หลังจากนั้นจึงนำมาวางบนสไลด์ แล้วย้อมสีด้วยสารเรืองแสงที่จำเพาะต่อยีน HER-2/neu แล้วนำมาวิเคราะห์โดยใช้กล้องฟลูออเรสเซนซ์



A



B



C

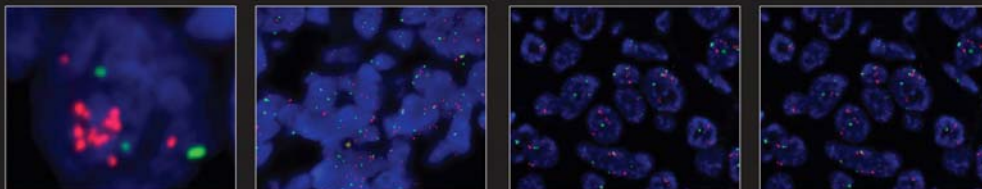


D

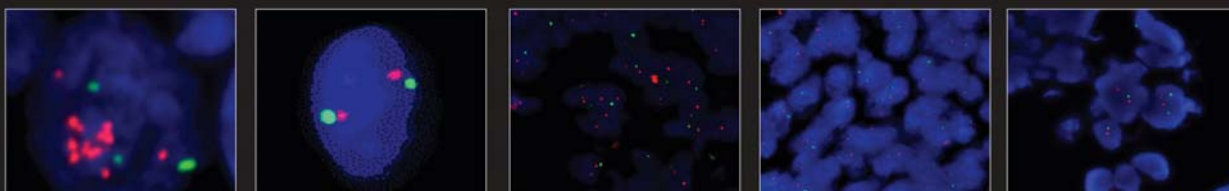
- A. การฝังชิ้นเนื้อลง Paraffin block
- B. Paraffin embedded tissue
- C. การตัดชิ้นเนื้อ (section)
- D. การวางชิ้นเนื้อลงบนแผ่นสไลด์

การวิเคราะห์ผลจะดูจากอัตราส่วนระหว่างจำนวนยีน HER-2/neu ต่อโครโมโซมแท่งที่ 17 โดยยีน HER-2/neu มีสัญญาณแสงสีแดง ส่วนโครโมโซมแท่งที่ 17 มีสัญญาณแสงสีเขียว ถ้าอัตราส่วนน้อยกว่า 2.2 จะให้ผลลบ และถ้าอัตราส่วนมากกว่า 2.2 จะให้ผลบวก

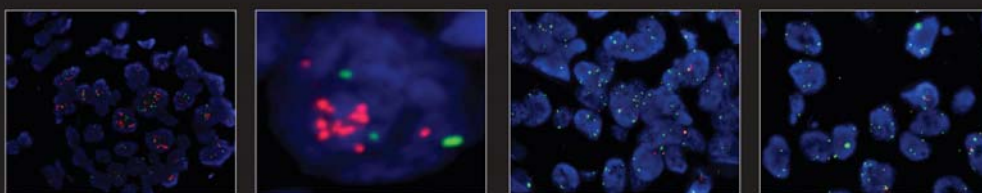
การตรวจหาการเพิ่มจำนวนของยีน HER-2/neu ในเซลล์มะเร็งเต้านมโดยเทคนิค FISH ที่ให้ผลบวก



การตรวจหาการเพิ่มจำนวนของยีน HER-2/neu ในเซลล์มะเร็งเต้านมโดยเทคนิค FISH ที่ให้ผลลบ



การตรวจหาการเพิ่มจำนวนของยีน HER-2/neu ในเซลล์มะเร็งเต้านมโดยเทคนิค FISH ที่ให้ผล polysomy 17



การตรวจหายีน HER-2/neu โดยเทคนิค FISH นี้ ปัจจุบันหน่วยมนุษยพันธุศาสตร์ได้เปิดเป็นงานบริการแห่งแรกและที่เดียวในประเทศไทย โดยการทดสอบนี้ได้ดำเนินการสอบเทียบมาตรฐานคุณภาพกับองค์กรต่างประเทศ ได้แก่ CAP (College of America Pathology) โดยแพทย์ผู้สนใจสามารถส่งตัวอย่างบล็อกล้างเนื้อพร้อมผลการตรวจด้วยเทคนิค IHC ได้ที่ โครงการบริการพยาธิวิทยา (PATH 4) ชั้น 4 อาคาร 1 คณะแพทยศาสตร์ โรงพยาบาลรามาธิบดี สอบถามรายละเอียดเพิ่มเติมที่ 02-2011463-4 FAX. 02-2011369

การตรวจหาการกลายของยีน KRAS

(Detection of KRAS gene mutation)

ยีน KRAS (Kirsten Rat Sarcoma) เป็นยีนที่มีหน้าที่กระตุ้นการสร้างโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโตของเซลล์ ในภาวะปกติ ยีน KRAS จะทำงานภายใต้การควบคุมของกลไกร่างกาย แต่หากเกิดการกลายของยีน KRAS (KRAS mutation) จะทำให้ยีนไม่สามารถควบคุมการทำงานอย่างปกติได้ และส่งผลให้เกิดการกระตุ้นการสร้างโปรตีนมากขึ้น ทำให้เซลล์แบ่งตัวอย่างต่อเนื่อง และแพร่กระจายได้ง่ายขึ้น



รูปที่ 1 ยีน KRAS อยู่บนแขนสั้นของโครโมโซมที่ 12

ดังนั้นจึงอาจแบ่งสภาพของดีเอ็นเอของยีน KRAS เป็น 2 แบบ ได้แก่ KRAS แบบปกติ (Wild type KRAS) และ KRAS แบบผิดปกติ (Mutant KRAS) ซึ่ง KRAS แบบผิดปกตินี้สามารถตรวจพบได้ในเซลล์มะเร็งหลายชนิด ได้แก่ มะเร็งตับอ่อน, มะเร็งลำไส้ใหญ่, มะเร็งปอด เป็นต้น จากข้อมูลงานวิจัยพบว่า การตรวจชนิดของยีน KRAS ถือเป็นตัวบ่งชี้ทางชีวภาพ (Biomarker) ของการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาที่ออกฤทธิ์เฉพาะเจาะจงต่อเป้าหมายซึ่งเป็น epidermal growth factor receptor (EGFR) เนื่องจากยีน KRAS ทั้ง 2 ชนิด ให้ผลการตอบสนองต่อยาแตกต่างกัน โดยที่ผู้ป่วยที่มียีน KRAS แบบปกติ จะสามารถตอบสนองต่อยา EGFR targeted therapy ได้ดีกว่า ผู้ป่วยที่มียีน KRAS แบบผิดปกติ ดังนั้นการตรวจหาชนิดของยีน KRAS จึงมีความสำคัญในการเลือกแนวทางการรักษา เพื่อให้เกิดการตอบสนองต่อการรักษาได้สูงสุด

การกลายของยีน KRAS จะอยู่บริเวณตำแหน่ง codon 12 และ 13 ที่ exon 2 มีการเปลี่ยนแปลงเบสภายใน codon ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของกรดอะมิโนได้หลากหลายรูปแบบ (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1: ชนิดการกลายของยีน KRAS และการเปลี่ยนแปลงของกรดอะมิโน

Mutation	Base change
Gly12Ala	GGT>GCT
Gly12Asp	GGT>GAT
Gly12Arg	GGT>CGT
Gly12Cys	GGT>TGT
Gly12Ser	GGT>AGT
Gly12Val	GGT>GTT
Gly13Asp	GGC>GAC
Gly13Ser	GGC>AGC
Gly13Arg	GGC>CGC
Gly13Asp	GGC>GAC
Gly13Ala	GGC>GCC
Gly13Val	GGC>GTC