

ORIGINAL ARTICLE

유방암에서 HER2 유전자 증폭 분석에 대한
은제자리부합법과 형광제자리부합법의 비교김태정 · 김태은 · 정은선 · 임현우¹ · 송병주² · 정상설² · 이아원 · 최영진 · 이교영가톨릭대학교 의과대학 병리학교실 · ¹예방의학교실 · ²외과학교실The Comparison of Automated Silver *in situ* Hybridization and Fluorescence *in situ* Hybridization for Evaluating HER2 Gene Amplification in Breast CarcinomaTae-Jung Kim, Tae Eun Kim, Eun Sun Jung, Hyeon Woo Yim¹, Byung Joo Song², Sang Seol Jung², Ahwon Lee, Yeong-Jin Choi, Kyo-Young LeeDepartments of Pathology, ¹Preventive Medicine, and ²Surgery, College of Medicine, The Catholic University of Korea, Seoul, Korea

Purpose: We want to validate the use of the silver-enhanced *in situ* hybridization (SISH) technique as compared with fluorescence *in situ* hybridization (FISH) technique for assessing the HER2 gene amplification of breast carcinoma. **Methods:** Tissue microarray (TMA) blocks from 58 breast cancer specimens were prepared and the concordance between HER2 gene amplification in breast cancer was determined by the FISH (PathVysion®, Abbott/Vysis) technique and the automated silver *in situ* hybridization (SISH, INFORM™, Ventana) technique. For comparison, all the specimens were stained by immunohistochemistry (Ventana-PATHWAY®4B5). Evaluation was performed by two pathologists and with following the instructions of the manufacturers and the guidelines of the American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists. **Results:** The results of SISH and FISH were identical in all 58 cases; 17 cases showed HER2 amplification, and on the other hand, 41 cases didn't show HER2 amplification. Five weakly positive (2+) cases in immuno-

histochemistry staining revealed one HER2 amplification and four no HER2 amplification on both SISH and FISH. The SISH results of the HER2/CEP17 ratio were well correlated with the FISH results of the HER2/CEP17 ratio (correlation coefficient $r=0.745$, Linear regression $r^2=0.555$, $p<0.001$). **Conclusion:** The results of the SISH technique for assessing the HER2 status of excised breast carcinoma is comparable to the result obtained by FISH. However, SISH has the advantage of having permanent end result that can be visualized by an ordinary light microscope and less laborious preparation and time is needed than is required by FISH. SISH seems to be more feasible than FISH for assessing HER2 amplification of breast cancer.

Key Words: Breast neoplasms, Fluorescence *in situ* hybridization, Immunohistochemistry, Silver *in situ* hybridization

중심단어: 유방암, 형광제자리부합법, 면역조직화학염색, 은제자리부합법

서 론

Human epidermal growth factor receptor 2 (HER2) 수

책임저자: 이아원

137-701 서울시 서초구 반포동 505, 가톨릭대학교 서울성모병원 병리과
Tel: 02-2258-1628, Fax: 02-2258-1621

E-mail: klee@catholic.ac.kr

접수일: 2009년 4월 21일 게재승인일: 2009년 7월 16일

본 연구는 2008년 가톨릭대학교 가톨릭암센터 연구비로 진행되었음.

용체는 타이로신 카이나제 활동을 지닌 185 kDa의 막단백질로 상피 세포의 성장과 분화를 조절하는 세포 하 신호전달체계의 활성화에 중요한 역할을 한다. (1) 유방암 환자에서 HER2 유전자의 증폭이나 HER2 단백질의 과발현은 유방암환자의 10-34%에서 관찰된다. (2) HER2 상태에 대한 분석은 환자의 예후와 anti-HER2 monoclonal antibody인 trastuzumab 치료에 중요하다. (3, 4) 초창기에는 HER2 유전자 증폭이나 단백질 과발현 유무를 알아보는 방법으로 Southern 또는 Western blotting이 쓰

였으나 임상 적용은 되지 못하였다. 면역조직화학 염색 방법이 일차 선별검사로 가장 널리 쓰이고 있으나 기관별 차이가 있고, 기술적인 정확성이나 결과의 재연성면에서 논란이 많다. (5) 형광제자리부합법(fluorescence *in situ* hybridization, FISH)은 현재 가장 믿을만하다고 알려져 있으며, DNA 자체가 매우 안정적이므로 파라핀포매 조직에서 행할 수 있고 면역조직화학염색보다 조직의 상태에 민감하지 않으며 병리의사 간의 판독 일치율이 높은 장점이 있다. 그러나 검사 과정이 복잡하고 판독 시 암실에서 형광현미경을 통해 진행하여야 하는 불편함이 있으며 형광을 사용하기 때문에 결과의 영구 보존이 불가능하다는 단점이 있다. (6) 최근에는 은제자리부합법(silver *in situ* hybridization, SISH)이 소개되어 FISH의 정확성을 지니고 있으며, 일반 광학 현미경을 이용하여 쉽게 해석할 수 있고, 결과의 영구적인 보존이 가능하여 FISH를 대체할 수 있는 검사로 대두되고 있다. (7,8) 저자들은 한국의 유방암 환자의 HER2 상태 검사를 위하여 SISH와 FISH 검사를 동시에 시행하고 면역조직화학염색과의 비교를 통해 SISH 검사의 유용성에 대해 알아보려고 한다.

방 법

2008년 서울성모병원에서 유방암으로 유방 절제술을 시행 받은 환자 58명을 대상으로 하였다. 유방암 조직 슬라이드를 재검하여 종양 대표 부위에서 2 mm 크기의 종양 코어를 취하고 편도선 및 유방 샘증 조직을 대조군 코어로 하여, Tissue microarray (TMA)를 제작하였다. 병리소견 및 임상 정보는 Table 1에 요약되었다.

면역조직화학염색

면역조직화학염색은 제작된 TMA의 4 μ m 절편을 만들어, BenchMark XT automated slide processing system (Ventana, Tucson, USA)을 사용하여 염색하였고 HER2 PATHWAY[®] anti-HER2/neu (4B5) Rabbit Monoclonal Antibody (Ventana, Tucson, USA)를 사용하였다.

은제자리부합법

SISH를 시행하기 위해 동일 TMA의 연속적인 4 μ m 파라핀포매 절편을 만들었다. 일련의 염색은 INFORM HER2 DNA 소식자(Ventana, Tucson, USA)와 염색체 17 (CEP17) 소식자(Ventana, Tucson, USA)에 대한 제작자의 프로토콜을 따라 시행하였다. SISH는 Benchmark XT 자동화 처리 시스템(Ventana, Tucson, USA)을 사용하여 시행하였다. HER2 DNA 소식자는 95°C에서 15분간 변성(denaturation)시켰고, 52°C에

서 2시간 동안 부합화(hybridization)반응을 시행하였다. 부합화된 후에는 72°C에서 수세를 3회 시행하였다. CEP17 소식자는 95°C에서 12분간 변성되었고, 44°C에서 2시간 동안 부합화하였다. 이후 59°C에서 수세를 3회 시행하였다. HER2와 CEP17의 DNP 표지 소식자는 토끼 항-DNP 일차 항체와 ultraView SISH 검출 키트(Ventana, Tucson, USA)를 사용하여 가시화하였다. 검출 키트는 발색 효소인 horse radish peroxidase (HRP)가 융합된 염소 항-토끼 항체를 포함하고 있다. 이후, SISH의 최종 반응물은 은침전물인데, 연속적으로 silver A (silver acetate), silver

Table 1. Characteristics of patients (n=58)

Characteristics	No. of patients (%)
Age (yr)	
<50	25 (43.1)
≥50	33 (56.9)
Histologic type	
Invasive ductal	51 (87.9)
Invasive lobular	2 (3.4)
Medullary	1 (1.7)
Micropapillary	3 (5.1)
Mixed ductal and mucinous	1 (1.7)
Histologic grade	
I	12 (20.7)
II	24 (41.4)
III	22 (37.9)
Estrogen receptor	
Negative	15 (30.0)
Positive	43 (70.0)
Progesteron receptor	
Negative	26 (44.8)
Positive	32 (55.2)
T stage	
T1	17 (29.3)
T2	33 (56.9)
T3	7 (12.1)
T4	1 (1.7)
N stage	
N0	33 (56.9)
N1	15 (25.9)
N2	3 (5.1)
N3	7 (12.1)
M stage	
M0	57 (98.3)
M1	1 (1.7)
No. of dissected LN	
<20	44 (75.9)
≥20	14 (24.1)
Ratio of metastatic/removed LNs	
<50%	51 (87.9)
≥50%	7 (12.1)

LN=lymph node.

B (hydroquinone), silver C (H_2O_2)가 첨가되면서 화학 반응이 이뤄지고, 여기서 silver ion (Ag^+)은 hydroquinone에 의해 환원되어 metallic silver atom (Ag)로 된다. 이 반응 과정에서 hydrogen peroxide (silver C)는 HRP의 기질로서 작용하여 반응을 촉진시킨다. 은 침전물은 핵에 침전되며 HER2 유전자의 하나의 복사(copy)는 한 개의 검은 점으로 가시화 된다. 이후, 일반 광학 현미경에서 해석하기 위해 Ventana Hematoxylin II (Ventana, Tucson, USA)에 의해 대조 염색하였다.

형광제자리부합법

FISH 또한 동일 TMA 블록의 4 μm 두께의 연속 절편에서 시행되었다. 탈파라핀화 및 단백질을 분해 효소 소화 후에 HER2 FISH 키트(PathVysion, Abbott/Vysis, Downers Grove, USA)를 사용하여 제작자의 지침에 따라 실험하였다. 간단히 요약하면 95-99°C의 열을 가하여 항원 복구 후 HER2/CEP17 표지자로 45°C로 16시간 동안 부합화 과정을 거쳤다. 휴지기의 정상 세포에서는 CEP17 DNA 소식자가 염색체 17의 중심점(centromere)에 부착되어 1-2개의 녹색 형광 신호가 관찰되었으며, HER2 DNA 소식자는 HER2 염색체에 부착되어 1-2개의 적색 형광 신호가 관찰되었다.

점수화 기준 및 알고리즘

저자들의 실험의 모든 판독과 점수화는 다음의 정의와 알고리즘에 의해 두 명의 병리 전문의가 의견 일치를 본 값이다. HER2 유전자 상태는 2007 American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists (ASCO/CAP) 추천 지침에 따라 1) HER2 유전자 증폭이 음성, HER2와 CEP17의 비(HER2/CEP17)가 1.8보다 작은 경우, 2) HER2 유전자 증폭이 부정(equivocal), HER2/CEP17이 1.8과 2.2 사이인 경우, 3) HER2 유전자 증폭이 양성, HER2/CEP17이 2.2보다 큰 경우로 분류하였다. (9) SISH의 평가 알고리즘은 제작자가 제공하는 해석지침서인 Interpretation Guide INFORM™ HER-2 (Ventana, Tucson)에 따랐다. 알고리즘은 두 부분의 방법(two-part approach)으로 구성되었는데 요약하면 다음과 같다. 방법 1에서는 HER2 또는 CEP17의 슬라이드의 염색상의 적절성을 평가한 후, SISH 염색이 적절히 발현된 것으로 보이는 악성세포 핵들이 있는 목표 구역을 설정하여 빠르게 반정량적(Semi-quantitative)으로 목표 구역의 HER2 염색신호의 평균값(mean spot count)을 구하고, 동일 목표 구역에서 반정량적으로 CEP17의 염색신호의 평균값을 구해서, HER2/CEP17이 1.4 미만인 경우는 HER2 유전자 증폭 음성으로, 4.0 초과인 경우, HER2 유전자 증폭 양성으로 정의하고 HER2/CEP17이 1.4와 4.0 사이인 경우를 재검증으로

정하고 방법 2를 적용한다. 방법 2에서는 동일 목표 구역에서 정량적인 방법으로 20개 핵 HER2 염색신호 수의 합을 구하고, 이것을 동일 목표 구역에서 20개 핵의 CEP17 염색신호 수의 합으로 나누어 HER2/CEP17이 1.8 미만인 경우는 HER2 유전자 증폭 음성으로, 2.2 초과인 경우 HER2 유전자 증폭 양성으로 정의한다. 여기서 HER2/CEP17이 1.8과 2.2 사이인 경우는 다시 재검증으로 정하고, 정확도를 높이기 위해 방법 2A를 시행하는데, 방법 2A에서는 이전 목표구역과는 다른 목표 구역을 정해서 정량적인 방법으로 20개 핵의 HER2 염색신호 수의 합을 구하고, 동일 구역에서 20개 핵의 CEP17 염색신호 수의 합을 구한 후, 이전 목표구역에서 구했던 HER2, CEP17 각각의 합과 더해 총 40개의 세포에서 HER2/CEP17을 구하고 이것이 1.8 미만인 경우는 HER2 유전자 증폭 음성으로, 2.2 초과인 경우, HER2 유전자 증폭 양성으로 정의하며, 그 비가 1.8과 2.2 사이인 경우는 부정으로 정의하였다.

FISH 또한 2007 ASCO/CAP 지침에 따랐으며, (9) 1) HER2 유전자 증폭 음성은 HER2 유전자의 적색 형광 신호와 CEP17의 녹색 형광 신호의 비(HER2/CEP17)가 1.8 이하인 경우, 2) 부정은 HER2/CEP17이 1.8-2.2인 경우, 3) 양성은 2.2 이상인 경우로 판독하였으며, 2개의 서로 다른 지역에서 각각 20개 세포의 HER2 및 CEP17 형광 신호를 구해 총 40개의 세포에서 그 형광 신호를 합산하여 HER2/CEP17을 계산하였다.

면역조직화학염색도 2007 ASCO/CAP 지침에 따라 정의했다. (9) 첫째, 면역조직화학염색이 음성은 0 또는 1+로 정의하였는데 염색이 안되었거나 약하게 염색되었으며 어떤 종양세포에서도 불완전하게 막성 염색상을 보인 경우, 둘째, 부정인 경우는 2+로 정의하며 염색이 비록 일정 하지 않거나 약하더라도 적어도 30% 이상의 악성 세포에서 명백하게 세포를 둘러싸는 염색상을 보인 경우, 셋째, 양성인 경우는 3+로 정의하고 적어도 30% 이상의 악성 세포에서 일정하고 진하게 막성 염색상을 보인 경우로 정의하였다.

통계

통계는 SPSS for Windows version 11.5 (SPSS Inc., Chicago, USA)를 사용했으며 선형회귀분석과 피어슨 상관분석으로 분석하였다. $p < 0.05$ 를 통계적으로 유의하다고 정의하였다.

결 과

SISH 및 FISH의 결과는 58중례 모두 동일하게 나왔는데 HER2 유전자 증폭 음성으로 판독된 수는 41예, 양성으로 판독된 수는 17예이며 부정으로 판독된 예는 SISH와 FISH 모두에

서 없었다(Table 2). HER2 면역조직화학염색 결과와 SISH 및 FISH 결과를 비교해 보았을 때, 면역조직화학염색과 SISH 및 FISH 모두에서 음성으로 판독된 수는 37예, 모두 양성으로 판독된 예는 16예였으며(Figure 1), 면역조직화학염색에서 부정(2+)으로 판독된 5예 중, 1예는 SISH 및 FISH 모두에서 HER2 유전

Table 2. Demonstration of SISH vs FISH HER2 gene amplification status obtained from 58 consecutively examined invasive breast cancer cases

HER2 gene amplification status	SISH			Total
	Negative	Equivocal	Positive	
FISH				
Negative	41	0	0	41
Equivocal	0	0	0	0
Positive	0	0	17	17
Total	41	0	17	58

SISH=silver *in situ* hybridization; FISH=fluorescence *in situ* hybridization.

자 증폭 양성으로 판독되었고, 나머지 4예는 SISH 및 FISH 모두에서 유전자 증폭이 관찰되지 않았다(Table 3). 모든 증례는 SISH 및 FISH 각각의 HER2 핵당 평균 신호수, CEP17 핵당 평균신호

Table 3. Multiple comparison between HER2 amplification determined by SISH, FISH and HER2 overexpressed by IHC (TMA, Ventana)

	IHC (TMA, Ventana)		
	Negative (0 or 1+)	Equivocal (2+)	Positive (3+)
SISH (n=58)			
No amplification	37	4	0
Amplification	0	1	16
FISH (n=58)			
No amplification	37	4	0
Amplification	0	1	16

IHC=immunohistochemistry; TMA=tissue microarray; SISH=silver *in situ* hybridization; FISH=fluorescence *in situ* hybridization.

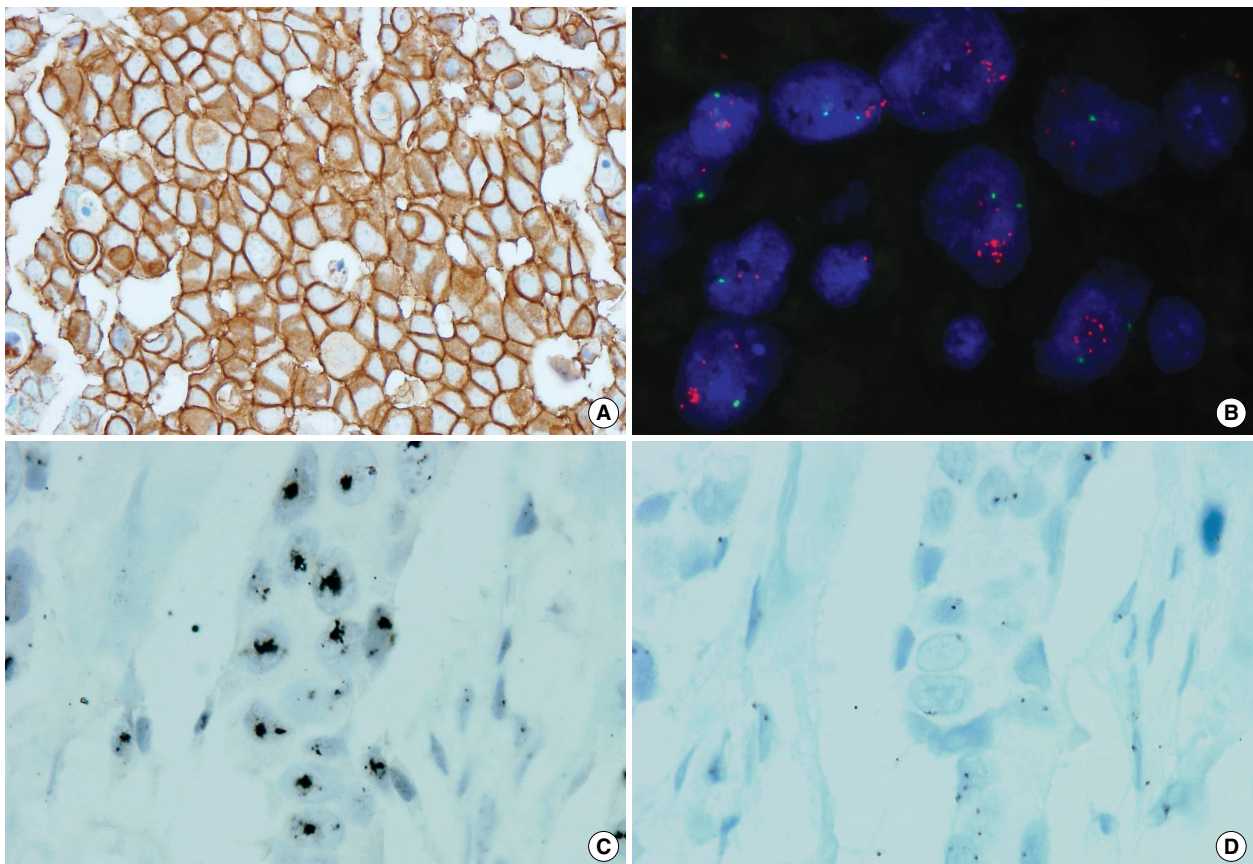


Figure 1. HER2 IHC, FISH and SISH results in breast carcinomas showed (A) the example of IHC of 3+ staining, (B) the example of HER2 amplification in FISH (HER/CEP17 ratio >2.2), (C, D) the example of HER2 amplification in SISH (C: HER2, D: CEP17, HER2/CEP17 ratio >2.2).

IHC=immunohistochemistry; SISH=silver *in situ* hybridization; FISH=fluorescence *in situ* hybridization.

Table 4. Quantitative enumeration of cases with a HER2/CEP17 ratio equal to or between 1.4 and 4.0 in semi-quantitative method of SISH

No. case	Semi-quantitative method			Quantitative method		
	HER2 spot mean number	CEP17 spot mean number	Overall ratio	HER2 spot mean number (20 nuclei)	CEP17 spot mean number (20 nuclei)	Overall ratio
1	2.00	1.33	1.50	2.45	1.85	1.32
2	2.33	1.67	1.40	2.15	1.65	1.30
3	2.33	1.67	1.40	2.30	1.80	1.28
4	3.00	2.00	1.50	2.10	1.65	1.27
5	2.33	1.50	1.55	2.15	1.95	1.10

SISH=silver *in situ* hybridization.**Table 5.** Analytical validation between HER2/CEP17 ratio of SISH and FISH

SISH vs FISH HER2 copy enumeration	
Correlation coefficient (Pearson)	$r=0.829$
Linear regression	$r^2=0.687$ $p<0.001$
SISH vs FISH CEP17 copy enumeration	
Correlation coefficient (Pearson)	$r=0.233$
Linear regression	$r^2=0.037$ $p=0.078$
SISH vs FISH HER2/CEP17 ratio	
Correlation coefficient (Pearson)	$r=0.745$
Linear regression	$r^2=0.555$ $p<0.001$

SISH=silver *in situ* hybridization; FISH=fluorescence *in situ* hybridization.

수, HER2/CEP17 값을 구하여 방법 간의 비교를 하였는데, SISH에서의 HER2 핵당 평균 신호수와 CEP17 핵당 평균 신호수는 5예를 제외하고 모두 반정량적으로 계산한 값이며, HER2/CEP17이 1.4 미만으로 HER2 유전자 증폭음성으로 결정되었거나 HER2/CEP17 초과로 HER2 유전자 증폭양성으로 결정되었다. 58예 중 SISH의 우선적 방법 1 반정량적인 계산에서 HER2/CEP17이 1.4 이상 4.0 이하에 위치했던 재검증례 5예는 방법 2로 같은 영역에서 다시 정량적으로 20개의 핵을 세었으며 5예 모두 HER2/CEP17이 1.8 미만으로 계산되어 음성으로 판독되었다(Table 4). SISH 및 FISH 검사 비교 시, HER2 SISH 핵당 평균 신호수 값과 HER2 FISH 핵당 평균 신호수 값은 통계적으로 유의한 일치 관계를 보였다(correlation coefficient $r=0.829$, Linear regression $r^2=0.687$, $p<0.001$). CEP17 SISH 핵당 평균 신호수 값과 CEP17 FISH 핵당 평균 신호수 값은 통계적으로 유의한 일치를 보이지 않았다($r=0.233$, $r^2=0.037$, $p=0.078$). CISH HER2/CEP17 값과 FISH HER2/CEP17 값은 통계적으로 유의한 일치를 보였다($r=0.745$, $r^2=0.555$, $p<0.001$) (Table 5).

고 찰

HER2 유전자 증폭은 종괴의 침습성과 나쁜 예후와 관련이 있다고 알려지기 시작하였으나, (10-12) 임상적으로 크게 주목을 받기 시작한 것은 항암 치료 및 trastuzumab 치료와의 관련성이 밝혀지면서부터이다. HER2를 목표로 하는 분자표적치료는 HER2 유전자 증폭이 있는 환자군이 고려 대상이 된다. (13-15) 현재 가장 정확한 HER2 상태 판단 기준은 FISH로 여겨지나 비용과 시간이 많이 들고, 실험 여력을 갖춘 기관이 부족하다는 점 등 제약이 있어 널리 보급되지는 못한 상태이다. 최근 도입된 SISH가 FISH만큼의 정확하면서 적용하기도 쉬워 FISH의 대안으로 대두되고 있다. 최근까지 영어 문헌검색상 SISH와 FISH의 비교에 관한 여러 논문에서도 높은 결과의 일치율을 보였다. Dietel 등(7)은 99예의 실험에서 96%의 일치율, Carbone 등(16)은 89예에서 98.9%의 일치율, Shousha 등(8)은 53예에서 94%의 일치율 및 Itoh 등(17)은 44예에서 97.7%의 일치율을 보였다. 본 연구는 58예를 대상으로 하여 비록 증례 수는 적었으나 두 방법 간에 100% 일치율을 보였으며, SISH의 대부분 HER2/CEP17가 반정량적인 값임에도 불구하고 FISH의 HER2/CEP17와 매우 유사한 상관성을 보였다(Table 5). 이는 SISH에서의 반정량적인 신호수 계산이 방법적으로 매우 쉽고 비교적 객관적인 결과를 보여준다는 것을 알 수 있었다. SISH의 우선적 방법 1 반정량적 계산에서 1.4와 4.0사이로 나와 다시 정량적인 계산을 해야 했던 5예 모두는 HER2/CEP17 값이 음성을 결정하는 기준(HER2/CEP<1.4)에 가깝게 나왔으며, 다시 정량적으로 방법 2에서 20개의 핵에서 신호수를 세었을 때 HER2/CEP17 값이 1.8 미만으로 계산되어 모두 음성으로 결정되었다(Table 4).

Shousha 등(8) HER2 SISH의 결과와 HER2 면역조직화학염색 결과를 비교하여, 절제 검체에서는 면역조직화학염색 음성(0 또는 1+)인 경우는 SISH 결과도 모두 음성을 보였고, 양성(3+)인 경우는 72%가 SISH 양성이었으며, 핵생검(core biopsy) 검체에서는 면역조직화학염색상 음성(0 또는 1+)인 경우 94%에서

SISH 음성이었고, IHC 양성(3+)인 경우 42%가 SISH 양성으로 절제 검체에서 핵생검 검체보다 면역조직화학염색결과와 발색제 자리부합법(chromogenic in situ hybridization, CISH)결과의 일치율이 높았다. Carbone 등(16)은 89예의 침윤성 유방암에서 면역조직화학염색과 각종 제자리부합법과의 일치도를 비교하였으며, SISH, FISH 및 CISH와의 일치도는 각각 96.6%, 97.8% 및 96.6%로 매우 높았다. 저자들의 실험에서는 절제 조직의 대표 부위를 TMA로 제작하여 분석하였으며 면역조직화학염색이 음성(0 또는 1+)인 경우는 SISH 음성, 면역조직화학염색이 양성인 경우(3+)는 SISH 양성을 보여 높은 일치율을 보였다. 또한 89예의 침윤성 유방암 조직을 5곳의 검사실에서 각각 염색하고 판독하여 결과 재현성을 조사하였을 때, 합의 진단과의 일치도는 97.6%에서 100%로 매우 높았다(K_w value 0.86–1.00). 불일치를 보이던 중례는 2예로 이 중 1예는 SISH 검사상 부정 분류에 속하였으며 이는 FISH 검사에서도 부정 분류에 속하였다. 나머지 1예는 CEP-17 polysomy 경우로 2곳은 양성, 2곳은 음성, 나머지 1곳에서는 부정으로 판독하였다.

지금까지 SISH와 FISH를 비교한 논문들이 모두 높은 결과의 일치율을 보였으나, SISH의 점수계산에서 SISH 제작자가 제공하는 알고리즘의 반정량적인 방법에 대해 언급한 논문은 Carbone 등(16)뿐이었다. 그러나 Carbone 등(16)도 반정량적으로 계산한 SISH의 HER2/CEP17 값과 FISH의 HER2/CEP17 값의 구체적 비교는 언급하지 않았다. Shousha 등(8)은 처음부터 정량적인 방법을 썼고 Dietel 등(7)은 구체적인 계산 방법에 대해 언급하지 않았다. 제작자의 해석지침서에는 전체 검체의 85%는 반정량적인 방법으로 HER2 유전자 증폭 여부를 결정할 수 있고 나머지 소수의 검체에 대해서만 정량적인 방법을 사용할 수 있다고 소개하고 있는데, 본 연구에서도 전체 검체의 87.5%에서 반정량적으로 HER2 유전자 증폭 여부를 결정할 수 있었다. 저자들이 경험한 바로는 SISH에서 우선적으로 HER2 유전자 증폭 여부를 결정하는 데에 반정량적인 방법을 사용할 수 있으며 정량적인 방법과 유사한 결과를 얻을 수 있는 것은 SISH의 검은색 염색 신호가 FISH의 형광 신호보다 더 판독하기 쉽기 때문으로 생각된다.

결론

이 연구에서 저자들은 HER2유전자 증폭 유무를 검색하는 방법으로 SISH와 FISH의 매우 높은 일치율을 확인할 수 있었다. SISH가 FISH에 비해 실험방법과 판독 측면에서 편리하고 결과를 영구히 보전할 수 있으며 비용이 적게 든다는 장점이 있어 앞으로 또 다른 HER2 검색법으로 자리잡을 것으로 기대된다.

참고문헌

1. Akiyama T, Sudo C, Ogawara H, Toyoshima K, Yamamoto T. The product of the human c-erbB-2 gene: a 185-kilodalton glycoprotein with tyrosine kinase activity. *Science* 1986;232:1644-6.
2. Ross JS, Fletcher JA. HER-2/neu (c-erb-B2) gene and protein in breast cancer. *Am J Clin Pathol* 1999;112:S53-67.
3. Cobleigh MA, Vogel CL, Tripathy D, Robert NJ, Scholl S, Fehrenbacher L, et al. Multinational study of the efficacy and safety of humanized anti-HER2 monoclonal antibody in women who have HER2-overexpressing metastatic breast cancer that has progressed after chemotherapy for metastatic disease. *J Clin Oncol* 1999;17:2639-48.
4. Shak S. Overview of the trastuzumab (Herceptin) anti-HER2 monoclonal antibody clinical program in HER2-overexpressing metastatic breast cancer. Herceptin Multinational Investigator Study Group. *Semin Oncol* 1999;26:71-7.
5. Press MF, Sauter G, Bernstein L, Villalobos IE, Mirlacher M, Zhou JY, et al. Diagnostic evaluation of HER-2 as a molecular target: an assessment of accuracy and reproducibility of laboratory testing in large, prospective, randomized clinical trials. *Clin Cancer Res* 2005;11:6598-607.
6. Lewis F, Jackson P, Lane S, Coast G, Hanby AM. Testing for HER2 in breast cancer. *Histopathology* 2004;45:207-17.
7. Dietel M, Ellis IO, Höfler H, Kreipe H, Moch H, Dankof A, et al. Comparison of automated silver enhanced in situ hybridisation (SISH) and fluorescence ISH (FISH) for the validation of HER2 gene status in breast carcinoma according to the guidelines of the American Society of Clinical Oncology and the College of American Pathologists. *Virchows Arch* 2007;451:19-25.
8. Shousha S, Peston D, Amo-Takyi B, Morgan M, Jasani B. Evaluation of automated silver-enhanced in situ hybridization (SISH) for detection of HER2 gene amplification in breast carcinoma excision and core biopsy specimens. *Histopathology* 2009;54:248-53.
9. Wolff AC, Hammond ME, Schwartz JN, Hagerty KL, Allred DC, Cote RJ, et al. American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists guideline recommendations for human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer. *J Clin Oncol* 2007;25:118-45.
10. Slamon DJ, Godolphin W, Jones LA, Holt JA, Wong SG, Keith DE, et al. Studies of the HER-2/neu proto-oncogene in human breast and ovarian cancer. *Science* 1989;244:707-12.
11. Révillion F, Bonnetterre J, Peyrat JP. ERBB2 oncogene in human

- breast cancer and its clinical significance. *Eur J Cancer* 1998;34:791-808.
12. Tandon AK, Clark GM, Chamness GC, Ullrich A, McGuire WL. HER-2/neu oncogene protein and prognosis in breast cancer. *J Clin Oncol* 1989;7:1120-8.
13. Mass RD, Press MF, Anderson S, Cobleigh MA, Vogel CL, Dybdal N, et al. Evaluation of clinical outcomes according to HER2 detection by fluorescence in situ hybridization in women with metastatic breast cancer treated with trastuzumab. *Clin Breast Cancer* 2005;6:240-6.
14. Tubbs RR, Pettay JD, Roche PC, Stoler MH, Jenkins RB, Grogan TM. Discrepancies in clinical laboratory testing of eligibility for trastuzumab therapy: apparent immunohistochemical false-positives do not get the message. *J Clin Oncol* 2001;19:2714-21.
15. Amould L, Arveux P, Couturier J, Gelly-Marty M, Loustalot C, Ettore F, et al. Pathologic complete response to trastuzumab-based neoadjuvant therapy is related to the level of HER-2 amplification. *Clin Cancer Res* 2007;13:6404-9.
16. Carbone A, Botti G, Gloghini A, Simone G, Truini M, Curcio MP, et al. Delineation of HER2 gene status in breast carcinoma by silver in situ hybridization is reproducible among laboratories and pathologists. *J Mol Diagn* 2008;10:527-36.
17. Itoh H, Kato N, Serizawa A, Itoh T, Umemura S, Osamura RT. HER2 rabbit monoclonal antibody 4B5 and silver SISH: high performance in surgical pathology for appropriate patient care. *Mod Pathol* 2009; 22:205.