

# HER2 immunhisztokémiai vizsgálatok minőségellenőrzése

## Egy magyarországi körvizsgálat eredményei

Cserni Gábor<sup>1</sup>, Kálmán Ede<sup>2</sup>, Kulka Janina<sup>3</sup>, Orosz Zsolt<sup>4</sup>,  
Udvarhelyi Nóra<sup>4</sup>, Krenács Tibor<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Bács-Kiskun Megyei Önkormányzat Kórháza, Kecskemét,

<sup>2</sup>Pécsi Tudományegyetem, Pathológiai Intézet, Pécs,

<sup>3</sup>Semmelweis Egyetem, II. sz. Pathológiai Intézet, Budapest,

<sup>4</sup>Országos Onkológiai Intézet, Daganatpathológiai Osztály,

<sup>5</sup>Semmelweis Egyetem, I. sz. Pathológiai és Kísérletes Rákkutató Intézet, Budapest

Az emlőrákok HER2-pozitivitása vagy -negativitása a betegek kezelését jelentősen befolyásolja. A HER2-státus meghatározásának leggyakoribb módszere az immunhisztokémiai vizsgálat. Előzetes felmérések szerint Magyarországon az emlőrákok HER2-pozitivitási aránya szövettani laboratóriumonként nagyon változó, és összesítve a nemzetközi irodalmi adatok alsó értéke körül mozog (12% 3+ és 11% 2+ értékelésű eset). A HER2-immunhisztokémia minőségellenőrzése céljából önkéntes részvételű, anonimá telt, háromfordulós körvizsgálatot végeztünk, amelyben 4-4 ismert HER2-státusú tumorminta HER2-immunfestése és ennek értékelése képezte a feladatot, a laboratóriumokban megszokott módon. Ezt követően a jelen közlemény szerzői, mint szakértők, együttesen értékelték a metszeteket, és az így kapott eredményeket összevetették a beküldő laboratóriumok értékelésével, valamint az eredeti HER2-státussal. A résztvevők saját értékelése és a szakértők véleménye alapján 22/218, illetve 21/218 alulértékelt HER2 3+ eset fordult elő, ami 10%-os alulértékelési aránynak felel meg. Mivel a minták jelentős része HER2-pozitív daganatból származott, a felülértékelés aránya kisebb volt (1%), de ha a negatív esetek 2+ értékelését is figyelembe vesszük, akkor elérte az 5%-ot (saját értékelés), illetve a 7%-ot (szakértői értékelés). A résztvevők interaktív megbeszélés kapcsán egyéni visszajelzést és technikai tanácsokat kaptak minden egyes mintájukkal kapcsolatban. A HER2-státus meghatározása csak megfelelő minőségbiztosítás mellett ad megbízható eredményeket, és a jelen minőségellenőrző vizsgálat egy lényeges lépés volt ennek irányában. *Magyar Onkológia 51:23–29, 2007*

Whether a breast carcinoma is HER2-positive or -negative has a significant impact on its treatment. The most common method of evaluating the HER2 status of breast tumors is immunohistochemistry. Preliminary data suggest that the proportion of HER2-positive tumors in Hungary shows a wide range from laboratory to laboratory, and overall it just reaches the bottom levels of the incidence reported in the literature (12% 3+ and 11% 2+ cases). A 3-round quality-control test was implemented on a voluntary and anonymous basis. Participating laboratories had to immunostain and evaluate 4 tumor samples per circulation, according to their daily routine. The authors of the present article gave an expert opinion in all cases, and this was compared with the individual laboratories' evaluation and the real FISH-controlled HER2 status of the samples. On the basis of the participants' and experts' evaluation 22/218 and 21/218 HER2 3+ cases were underscored, corresponding to an underevaluation rate of 10%. As most samples were from HER2-positive tumors, overscoring was less common (1%), but reached 5% (individual laboratories' evaluation) or 7% (expert evaluation) when the 2+ scoring of negative cases was also considered. Each case was discussed interactively with the participants and technical advice was also given when deemed necessary. The evaluation of the HER2 status of breast cancers gives reliable results only if adequate quality control measures are implemented, and this study was an important step in this respect. *Cserni G, Kálmán E, Kulka J, Orosz Z, Udvarhelyi N, Krenács T. Quality control of HER2 immunohistochemistry – Results from a Hungarian study. Hungarian Oncology 51:23–29, 2007*



Közlésre érkezett: 2007. február 14.

Elfogadva: 2007. február 28.

Levelezési cím: Dr. Cserni Gábor, Bács-Kiskun Megyei Önkormányzat Kórháza,  
6000 Kecskemét, Nyíri út 38., Tel./Fax: 76-516-768; E-mail: cserni@freemail.hu

## Bevezetés

A 2004. március 16-20. között Hamburgban megrendezett 4. Európai Emlőrák Kongresszuson „A patológiai tesztek jól végzik a klinikai gyakorlatban” címmel szervezték az egyik Oxford stílusú vitát. Az állítás ellen érvelő patológus, Giuseppe Viale (European Institute of Oncology, Milánó) egy anekdotikus történettel kezdte mondanivalóját. Eszerint egy emlőrákos beteg szövettani anyagát kapták második véleményezésre. Az eredeti lelet szerint ösztrogén- és progeszteronreceptor- (ÖR és PR) negatív emlőrákról volt szó, amely erős (3+) HER2-pozitivitást mutatott. A náluk megismételt vizsgálat szerint a daganat mindkét szteroidhormon-receptorra pozitív volt, míg HER2-státusa negatívnak bizonyult. Első megközelítésben csak két ellentmondó véleményről van szó, 50-50%-os hitelességgel. Ennek ellenére, aligha csak előítéletek alapján, az ember inkább a European Institute of Oncologyban működő minőség-ellenőrzött patológiai labor, mintsem egy kisebb osztály eredményeinek hisz. A probléma azonban sokkal nagyobb, mint csupán két patológiai intézmény eltérő véleménye ugyanarról az anyagról: a beteg kezelését az ismertett eredmények jelentősen befolyásolhatják. A jelenleg érvényes szentgalleni ajánlások értelmében az emlőrákos betegek szisztémás adjuváns kezelésekor prioritást élvez az endokrin kezelés, amennyiben a beteg tumora hormondependens, és ezt tükrözi az ÖR és PR pozitivitása (11). Az ÖR-pozitív tumorok várhatóan jól reagálnak a hormonális manipulációkra (12), és az endokrin kezelés egyik leggyakoribb szerének, a tamoxifennek a hatása még jobb, ha a tumorok egyben PR-pozitívak is (18). A hormonreceptorok immunhisztokémiai negativitása esetén gyakoribb a HER2 onkoprotein overexpressziója (21). A HER2-pozitív státus nem csak kedvezőtlen prognózist tükröz (17, 29) – ami miatt ez az állapot külön rizikó tényezőként került be a szentgalleni ajánlásokba (11), – hanem egyben bizonyos kezelések (pl. ÖR-pozitív emlőrákok tamoxifen-kezelése) (18) kevésbé hatásos voltára, illetve más kezelések (pl. ÖR-pozitív daganatok aromatázinhibitor-kezelése (16), vagy antraciklin-, illetve taxán-tartalmú kezelési sémák (14, 20) hatásosabb voltára utal. A HER2-pozitivitás különösképpen a HER2 fehérje ellen kialakított humanizált ellenanyaggal, a trasztuzumabbal

(Herceptin) végzett célzott terápia hatékonyságára prediktív (5, 27). Ez azért is fontos, mert a közelmúltban napvilágot látott evidenciák alapján a trasztuzumab a HER2-pozitív emlőrákok adjuváns kezelésében, mind a közepes, mind pedig a magas rizikójú betegcsoportban helyet kapott (10). Az idézett példában az első patológiai vélemény alapján egy trasztuzumabbal potenciálisan kezelhető, és endokrin kezeléssel nem uralható daganata volt a kérdéses betegnek, míg a második vélemény alapján egy hormonszenzitív, és trasztuzumab-kezelésre alkalmatlan tumort véleményeztek. Ez, figyelembe véve a kétféle kezelés eltérő mellékhatás-spektrumát és költségvonzatát, valamint a reálisan megalapozott javallat alapján történő alkalmazásuk során nyerhető jelentős klinikai hasznot, felhívja a figyelmet a patológiai tevékenység minőség-ellenőrzésének és -biztosításának fontosságára.

Az emlőrák hazánkban a nők leggyakoribb daganata (19), és a HER2-státus immunhisztokémiai meghatározása ma már elmaradhatatlan részét kell, hogy képezze a szövettani vizsgálatnak, minden olyan esetben, amikor a betegség szisztémás kezelése felmerül (25). A nemzetközi irodalmi adatok alapján a HER2-pozitív emlődaganatok aránya 15-30% között van (6, 26), és ezek a tumorok a patológiai labordiagnosztika által jól elkülöníthető, önálló entitásként jelennek meg a klinikai gyakorlatban (24). A Roche (Magyarország) Kft. három egymást követő évben, 2004 és 2006 között hazánkban nem teljes, de viszonylag széleskörű adatgyűjtést folytatott a patológiai osztályok önkéntes adatszolgáltatása segítségével, és ennek összesített eredményeit megosztotta a szerzőkkel (1. táblázat). A HER2 2+ és 3+ értékelésű emlőrákok aránya intézményenként 0-52%, illetve 0-48% között mozgott. Ezek az irodalmi adatok alapján várható minimum- és maximum-értékektől jócskán eltérő szélsőértékek arra is utalhatnak, hogy egyes laboratóriumokban, mindhárom évben, nagyobb arányban fordultak elő tévesen negatívnak, máshol pedig tévesen pozitívnak értékelt esetek.

Felismerve az immunhisztokémiai minőség-ellenőrzés jelentőségét, valamint a HER2-státus meghatározásának fontosságát, az évek óta működő QualiCont immunhisztokémiai minőség-ellenőrző programtól (<http://www.tiszanet.hu/qualicont/patologia.htm>) független, önkéntes részvételű, a HER2-immunhisztokémiai vizsgálá-

1. táblázat.  
HER2-vizsgálatok  
részeredményei  
Magyarországon

Év	Figyelembe vett esetek száma	HER2-státus immunhisztokémiával			
		negatív	1+	2+	3+
2004	4978	2188 (44,0%)	1521 (30,6%)	676 (13,6%) [0-51,6%]	593 (11,9%) [1,8-37,3%]
2005	5718	3547 (62,0%)	853 (14,9%)	608 (10,6%) [0-30,9%]	710 (12,4%) [0-47,9%]
2006	6196	3523 (56,9%)	1293 (20,9%)	618 (10,0%) [0-40,0%]	762 (12,3%) [0-36,1%]
Összesen	16892	9258 (54,8%)	3667 (21,7%)	1902 (11,3%)	2065 (12,2%)

A szögletes zárójelben megadott értékek az intézményenként jelentett százalékos arány minimumát és maximumát tükrözik.

tokra koncentráció, háromfordulós minőségellenőrző vizsgálatot szerveztünk a Roche (Magyarország) Kft. támogatásával. A jelen közleményben ennek tapasztalatait foglaljuk össze.

## Anyag és módszer

A három minőségellenőrző forduló céljára három különböző intézményből (Országos Onkológiai Intézet, Bács-Kiskun Megyei Önkormányzat Kórháza, Semmelweis Egyetem II. számú Patológiai Intézete) származó szöveti multiblokkot használtunk. Ezek mindegyike 4-4 emlőrák szövetszövetmintáját tartalmazta egy orientációs jelként használt egyéb szövetszövetdarabbal.

A vizsgálatban emlőrákos mintákat lelelező, immunhisztokémiai vizsgálatokat végző patológiai osztályok, intézetek önkéntes alapon vehettek részt. A potenciális résztvevők levélben kaptak felkérést arra, hogy a mellékelt metszeten a saját laboratóriumukban megszokott és beállított módon végezzenek el HER2 kimutatását célzó immunhisztokémiai reakciót, majd ezt követően a 4 szövetszövetmintát értékeljék a szokásos módon (a továbbiakban ez az értékelés „saját” értékelésként kerül említésre). Az eredménylap egyben metodikai részletekre is rákérdezt; a rögzítendő adatok a következők voltak: az antigénfeltárás módja, az ellenanyag típusa, az immunfestés kézi vagy automatizált volta, a detektáló rendszer részletei. A vizsgálatban az egyes vizsgálóhelyek számkódokkal szerepeltek.

A vizsgálat három azonos felépítésű fordulóból állt, amelyek 2005. szeptember elején kezdődtek; az egyes fordulókat több hét választotta el egymástól. A három forduló során elkészült metszeteket a szerzők egy alkalommal többnézős mikroszkóp mellett értékelték. A minden egyes szövetszövetmintáról konszenzus, vagy annak hiányában többségi vélemény alapján kialakított értékelés képezte az adott szövetszövetminta „referencia” értékelését. A referencia, illetve az eredeti szöveteken nyert és fluoreszcens *in situ* hibridizációval (FISH) is kontrollált HER2-státusokat a résztvevő laboratóriumok saját értékelésével vetették össze a szerzők. Az értékelést követően, 2006. májusában az eredmények közös fórumon, a résztvevők jelenlétében kerültek bemutatásra, részben összesítve, részben pedig a Mirax virtuális mikroszkópos metszetek (3DHISTECH Kft., Budapest) segítségével, laboratóriumonként.

Az értékelésnél egy „egyezési pontszámot” is kialakítottunk. Az egyes vizsgálóhelyek szövetszövetmintáknaként 0-2 pontot kaptak aszerint, hogy a HER2 reakció egyezett-e az eredeti HER2-státussal (1 pont), illetve a referenciaértékeléssel (további 1 pont). Ennek értelmében a 2 pont mindkettővel való egyezést tükröz, és mind metodikailag (jól kivitelezett reakció), mind pedig az értékelés szempontjából jó eredménynek felel meg. Az 1 pont csak a referenciaértékeléssel való egyezést tükrözi, és arra utal, hogy a reakciót jól értékelték, de az nem pontos eredményt mutat. Értelemszerűen, 0 pont esetén a referenciaértékelés nem egyezett sem az eredeti HER2-státussal, sem

pedig a labor saját értékelésével, ami mind metodikai, mind pedig értékelésselbeli problémákra utal. A 3 fordulóban összesen 12 szövetszövetmintát kellett vizsgálni, ami alapján a maximális pontszám 24 lehetett volna, de mivel nem minden intézmény vett részt minden fordulóban, a fordulónkénti átlagérték került meghatározásra, amelynek maximális értéke 8 lehetett.

A HER2-státus meghatározása az elterjedt HercepTest™ (DakoCytomation) értékelési séma szerint történt (4). A negatív, illetve 1+ értékelésű IHC-reakciók terápiás prediktív érték szempontjából negatívnak minősülnek, míg a 3+ értékelés pozitív eredménynek számít, és alapja lehet a trastuzumab-kezelésnek. Általánosan elfogadott, hogy a 2+ (gyengén pozitív; kérdésesen amplifikált gén) értékelésnél *in situ* hibridizációs vizsgálattal kell ellenőrizni a valós HER2-státust; a 2+ eseteknek kb. negyede mutat génamplifikációt (28), és ennek jelenlétében a 2+ érték pozitív státust tükröz. Ennek az ellenőrző vizsgálatnak az indikációja miatt, ha egy 3+ eset 2+ értékelést kap, az nem tekinthető egyértelműen hátrányos következmények forrásának. Ezzel szemben az már hátrányos eltérésnek tekintendő, amikor ugyanez az eset negatív vagy 1+ értékelést kap (potenciálisan hatékony kezelés szempontjából figyelmen kívül hagyott, esetleg kevésbé hatékony protokollok szerint kezelt beteg), vagy ha egy HER2-negatív eset kap 3+ értékelést (olyan beteg kezelését vonhatja maga után, akinél terápiás hatás nem várható, csak a mellékhatások jelentkeznek). Ez az elv érvényesült, amikor a hátrányos hatású értékeléseket vettük figyelembe a 2. táblázatban.

## Eredmények

A vizsgálatban összesen 35 intézmény vett részt, ezek közül 26 mindhárom fordulóban, 6 kettő és 3 csak egy fordulóban készítette el az elemzéshez szükséges immunhisztokémiai reakciót.

Az immunhisztokémiai reakciókat 29 helyen teljesen kézi módszerrel, 4 helyen automatizáltan, két helyen kapilláris rés technikával (MicroProbe rendszer, illetve Shandon Sequenza®)

2. táblázat.

Esetlegesen hátrányos módon tévesen értékelt esetek aránya

	Saját értékelés alapján	Referenciaértékelés alapján
Alulértékelt 3+ eset		
1. forduló	10/60	7/60
2. forduló	2/62	6/62
3. forduló	10/96	8/96
Összesen	22/218 (10%)	21/218 (10%)
Felülértékelt 0 vagy 1+ eset		
1. forduló	0/58 [5/58]	2/58 [8/58]
2. forduló	0/62 [1/62]	0/62 [2/62]
3. forduló	1/32 [1/32]	0/32 [0/32]
Összesen	1/152 (1%) [7/152 (5%)]	2/152 (1%) [10/152 (7%)]

Szögletes zárójelben a felülértékelt esetek között a 3+ értékelések mellett a 2+ értékelések is szerepelnek.

végezték. A felhasznált primer ellenanyag a helyszínek java részében a CB11 (Novocastra, Newcastle, Egyesült Királyság) monoklonális antitest volt (n=32), de előfordult A0485 (Dako Cytomation, Glostrup, Dánia) poliklonális (n=2), illetve SP3 (Labvision, Fremont, CA, USA) nyúl monoklonális (n=1) ellenanyag is. Az előhívó rendszerek viszonylag nagy változatosságot mutattak.

Az 1. fordulóban 31 labor vett részt, de egy esetben mindkét fél értékelhetetlennek minősítette a mintát, egy további esetben a szövetszövetmintából készült metszet fele „leúszott”, nem tapadt a lemezen, és ezért csak 29,5 szöveti multiblokk metszet kerülhetett értékelésre. A négy szövetminta eredeti értékelése 3+, 3+, negatív, 1+ volt; az első két minta FISH-pozitív, míg az utóbbi kettő negatív volt. A vizsgálatban résztvevők saját értékelése szerint 87/118 esetben (74%) egyezett a minták HER2-státusa az eredeti HER2-státussal, míg ugyanazon minták referenciáértékelése szerint ez az egyezés szerényebb volt 81/118 (69%). Az 1. ábra ebből a fordulóból mutat példát mind téves pozitív, mind pedig téves negatív reakcióra.

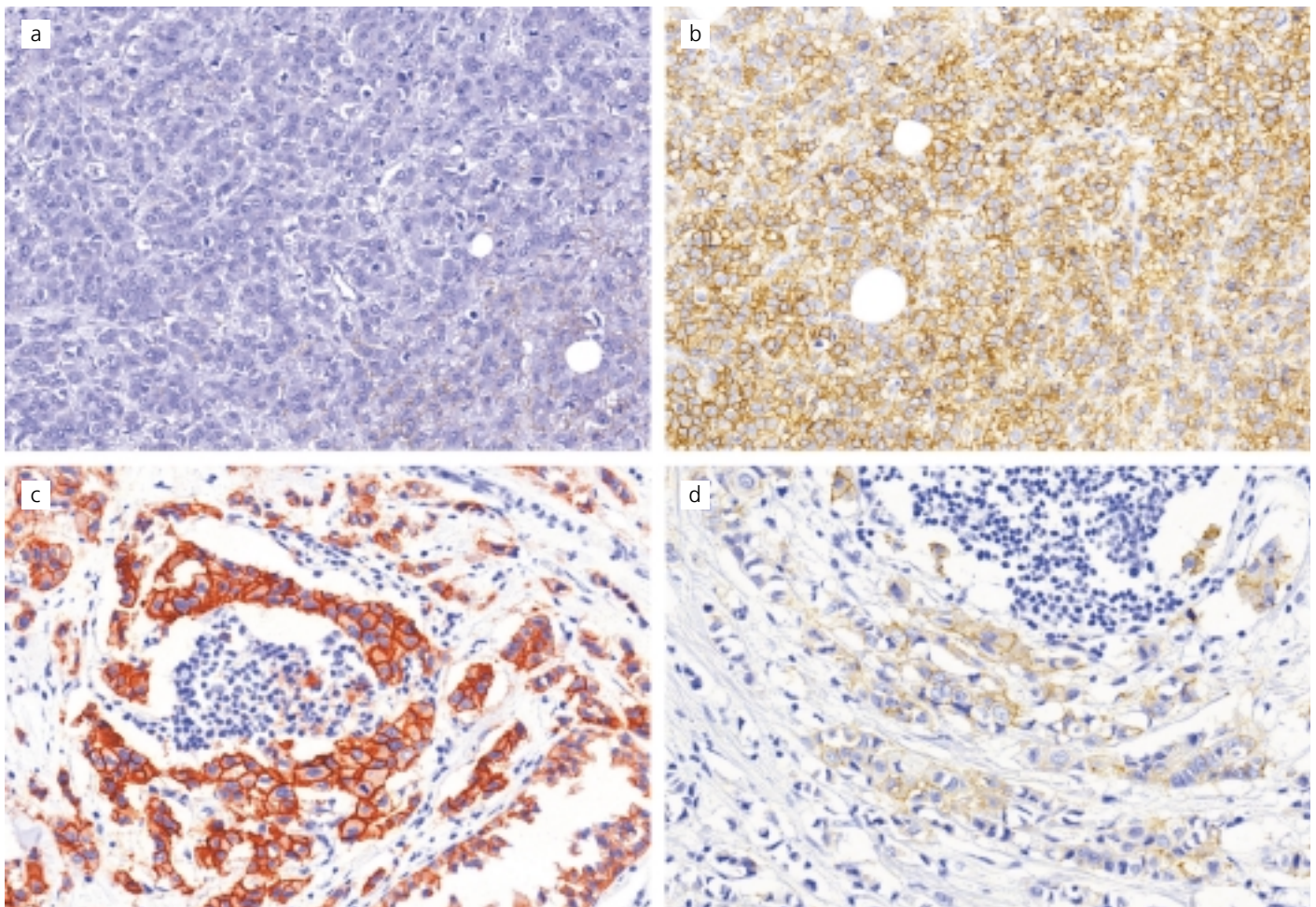
A 2. fordulóban 31 laboratórium vett részt, minden minta értékelhetőnek bizonyult. A négy

szövetminta eredeti értékelése negatív, negatív, 3+, 3+ volt; az első két minta FISH-negatív, míg az utóbbi kettő FISH-pozitív volt. A vizsgálatban résztvevők saját értékelése szerint 89/124 esetben (71%) egyezett a minták HER2-státusa az eredeti HER2-státussal, míg ugyanazon minták konszenzus-értékelése szerint ez az egyezés 92/124 (74%) volt.

A 3. fordulóban 32 laboratórium vett részt, minden minta értékelhető volt. A négy szövetminta eredeti értékelése 3+, negatív, 3+, 3+ volt, amit FISH vizsgálat is alátámasztott. A vizsgálatban résztvevők saját értékelése szerint 89/128 esetben (70%) egyezett a minták HER2-státusa az eredeti HER2-státussal, míg ugyanazon minták konszenzus-értékelése szerint ez az egyezés 107/128 (84%) volt.

A minták saját értékelése csak az esetek 72%-ában (265/370) egyezett az eredetileg meghatározott és többség által is olyannak véleményezett HER2-státussal, és az egyezés a szakértői referenciáértékelés szerint is csak 76% (280/370) volt. Ez arra utal, hogy jelenleg a napi gyakorlatban a HER2-eredmények csak korlátozottan reprodukálhatóak. Ennek ellenére a komoly tévedések aránya kisebbnek bizonyult. A trasztuzumabkezelés szempontjából esetlegesen hátrányos té-

1. ábra. Példa hamis negatív és hamis pozitív HER2-reakciókra. a: 1. forduló 1. szövetminta a 24-es labortól: hamis negatív (x20). b: 1. forduló 1. szövetminta a 30-as labortól: valós 3+ (x20). c: 1. forduló 4. szövetminta a 31-es labortól; saját értékelés szerint 2+, referenciáértékelés szerint 3+, eredetileg 1+: hamis pozitív (x30). d: 1. forduló 4. szövetmintája a 30-as labortól: valós 1+ (x30)



ves meghatározások arányát a 2. táblázat mutatja fordulónként és összesítve. A vizsgálati felállásban az alulértékelésből származó hibákból volt több, és ha figyelembe vesszük a 2+ értékelésű esetek in situ hibridizációs technikával való tisztázásának lehetőségét, akkor a felulértékelés előfordulása minimálisnak tekinthető.

A laboratóriumok jellemzésére használt egyezési pontszám alakulását a 2. ábra mutatja. A fordulók szerint átlagolt pontszám értékei laboratóriumonként 2,67 és 7 között alakultak (átlag ± szórás:  $5,1 \pm 1,1$ ). Maximális 8 pontos értékelést egyik résztvevő sem kapott.

## Megbeszélés

Az emlődaganatok HER2-státusa különböző módszerekkel vizsgálható, beleértve az itt is vizsgált immunhisztokémiai módszereket, a viszonyítási alapként használt fluoreszcens, esetleg kromogén in situ hibridizációt (13), vagy a kvantitatív polimeráz láncreakciót (15). Bár a trasztuzumabkezelés a sejtmembránhoz kötött fehérjét célozza, és az immunhisztokémia is ezt a fehérjét mutatja ki, a kezelésre adott várható választ mégis a FISH-sel meghatározott génamplifikáció jelzi jobban (2). Ugyanakkor az in situ hibridizáció nehezebben hozzáférhető, komolyabb infrastruktúrát igénylő, költségesebb módszer, mint az immunhisztokémia. Ezért a tumorok HER2-státusának immunfestéssel történő, mintegy szűrőszzerű meghatározása bevált, és a patológiai, valamint klinikai gyakorlatban széles körben alkalmazott stratégia, amelyben a 2+ értékelésű esetek további génamplifikációs vizsgálata szükséges. Ennek azonban a megfelelően kivitelezett, minőségellenőrzött és minőségbiztosított immunhisztokémia elengedhetetlen feltétele (2).

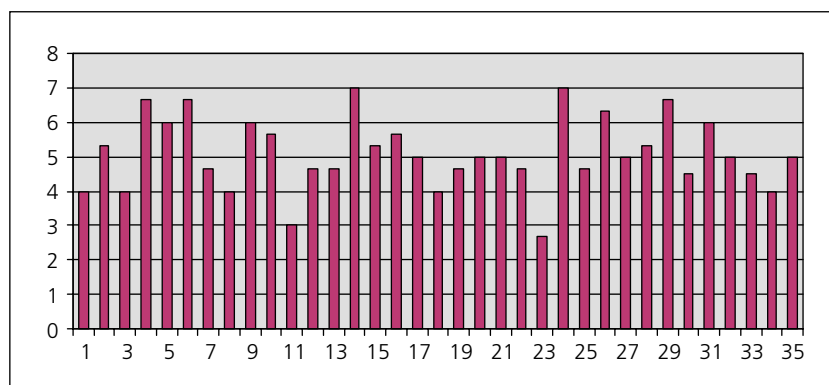
Az egyes ellenanyagokkal kapcsolatban más és más pozitívítási arányokat írnak le. Például a CB11 ellenanyaggal 12,5%-os pozitívítást mutató daganatcsoport a TAB250-nel 17,5%-os, míg egy nyúl poliklonális ellenanyaggal 38%-os pozitívítást adott (8). Ugyanakkor megfelelő minőségbiztosítás mellett több ellenanyag alkalmazása elfogadható, és a vizsgálathoz kötelezően alkalmazandó ellenanyagot nem írnak elő. Különböző metodikákkal és ellenanyagokkal is hasonlóan jó eredményeket lehet elérni (22). A DakoCytomation HercepTest™ teljesen standardizált kit lévén gyakran referenciatestként szerepel összehasonlító immunhisztokémiai vizsgálatokban, jobb eredményeket írnak le vele kapcsolatban. Ugyanakkor más ellenanyagok is adhatnak hasonló eredményeket olcsóbban (1). Egy három ellenanyagot (HercepTest™, A0485, CB11) összehasonlító elemzésben, a FISH-vizsgálat eredményeit viszonyítási alapul véve, a HercepTest™ volt a legspecifikusabb (73% 65%-kal, illetve 62%-kal szemben), de ezzel is találtak 5% téves negatívítást, és ennél nagyobb arányú téves pozitívítást. A pozitív, illetve negatív prediktív érték vonatkozásában mindhárom ellenanyag hasonlóan bizonyult (9). Az kétségtelen, hogy a HercepTest™ viszonylagos magas költségei, használati előírásai-

nak részletei (legfőképpen a speciális vízfürdő hiánya) közrejátszhattak abban, hogy a jelen körvizsgálatban egyik vizsgálóhely sem ezt az ellenanyagot használta.

A minőségbiztosítás egyik alapvető módszere, hogy a vizsgálóhely eredményeit az elfogadott irodalmi értékekkel vetik össze, ez is felhívhatja a figyelmet egyes problémákra. A bevezetőben említett adatgyűjtés ilyen jellegű hibákra utalt, hiszen sem a 0%-os, sem pedig a 48%-os gyakorisági adatok nem tűnnek valósnak. Egy további lépés az eredmények összevető elemzése azonos vagy lényegében azonos mintákon, amit a jelen vizsgálat is célul tűzött ki. Az eredményekhez vezető folyamatok minőségellenőrző vizsgálatokban való elemzése egyben lehetőséget ad egyes technikai hibák azonosítására, kijavítására. Európa-szerte több országban kezdeményeztek hasonló körvizsgálatokat, hogy igyekezzenek a patológiai laboratóriumok tevékenységét javítani, a tesztek kivitelezésének minőségét biztosítani (pl. a hazai Qualicont) (23, 26). A jelen munka az egyik lépés volt ebben az irányban. A vizsgálatban egyes laboratóriumok azonosíthatták magukat, mint az átlagon alul teljesítők, míg mások pozitív visszacsatolást kaphattak, hogy metodikájuk, értékelésük megfelelő. A virtuális metszetek kivetítésével és laboratóriumonkénti elemzésével egyben olyan esetleges metodikai hibákra is felhívtuk a résztvevők figyelmét, amelyek javítása jobb eredményekhez vezethet. Ez a statisztikákkal, összehasonlításokkal kiegészített, esetekre és anonim laboratóriumokra lebontott interaktív megbeszélés külön értéket adott az itt ismertetett minőségellenőrző körvizsgálatnak.

Eltérő eredmények nem csak technológiai, hanem interpretációs problémákból is adódhatnak, amint erre a College of American Pathologists vizsgálata is rámutatott (3). Interpretációs problémák a jelen vizsgálat során is előfordultak, amint erre az egyezési pontszám alsó értékei utalnak (4 vagy az alatt). Az interpretációs hibák kijavítására a virtuális metszetek bemutatása és kielemezése jó lehetőséget és gyakorlást adott. Megjegyzendő, hogy a legnagyobb kihívást jelentő 2+ értékelésű esetek nem kerültek a multiblokkokba, így az egyes esetekben szuboptimális eredmények illuzórikusan felül is értékelhetik a valós helyzetet. Meg kell azt is jegyezni, hogy a bemutatott eredmények nem feltétlenül tükrözik a HER2-meghatározás hétköznapi gyakorlatát, hi-

2. ábra.  
Az egyezési pontszám fordulók szerinti átlagának alakulása intézményenként



szen ott általában lehetőség van a reakciók ismétlésére. Kirívó példa volt, hogy az automatizált immunhisztokémiai reakció kivitelezésekor, az esz-köz meghibásodása miatt nem került ellenanyag a szövetminták egy részére, ami eleve kizárta, hogy a pozitív esetet pozitívnak tudják minősíteni, bár a referenciaértékeléssel való egyezés megvolt. Ugyanakkor a háromfordulós vizsgálat során több laboratórium esetén is felmerült az optimum alatti teljesítés lehetősége, ami remélhetően a vizsgálat hatására javítási törekvést, és ennek kapcsán javulást eredményez majd.

A fentiekben leírt erőfeszítéseket mintegy alátámasztja a közelmúltban elfogadott, HER2-vizsgálatokkal kapcsolatos amerikai ajánlás is (28). A közlemény többek között megállapítja, hogy a jelenleg végzett HER2-vizsgálatok kb. 20%-a téves eredményt adhat, ami a bevezetőben vázoltak miatt komoly terápiás tévedésekhez vezethet. Pontosan ezért van szükség a minőségellenőrzött tevékenységre, amely a preanalitikus eseményekre, a reakciók kivitelezésére, és az értékelés részleteire is ki kell, hogy térjen. Ennek a minőségellenőrzésnek a reális költségeit is célszerű lenne beépíteni a tevékenység elszámolásába. A megfelelő célpontok (így a jelen közlemény témáját adó HER2) azonosítása viszonylag költséges célzott terápiákat vonhat maga után, ezért pontos azonosításuk külön hangsúlyt kelle-ne, hogy kapjon a finanszírozási oldalon is, amely alkalmanként a diagnosztikus kit költségét sem fedezi, nem beszélve az infrastruktúra ráosztott költségeiről, az asszisztensi és orvosi munka értékéről. Megfelelő metodika mellett a HER2-immunhisztokémiai eredmények jól korrelálnak a FISH-eredményekkel, és a korábban vázolt diagnosztikus algoritmus (a HER2 2+ esetek FISH kontrolljával) jól alkalmazható. A megfelelő minőség biztosításának a folyamatos minőségellenőrzés szerves része kell, hogy legyen, csak így garantálható az emlőrákok (és néhány más daganat) kezelésében oly fontos HER2-státus megbízható immunhisztokémiai meghatározása. Ennek érdekében további forduló kivitelezésének szervezése és lebonyolítása is megkezdődött, és ez szerencsésen egybeesik azzal, hogy a QualiCont In Vitro Diagnosztikai Minőségellenőrzési Közhasznu Társaság immunhisztokémiai programja is szerepelteti a HER2-meghatározást.

### Köszönetnyilvánítás

A vizsgálatban alfabetikus sorrendben az alábbi intézmények immunhisztokémiai laboratóriumai vettek részt, amiért köszönet illeti őket: Baja, Városi Kórház, Békéscsaba, Megyei Kórház, Budapest: Belügyminisztérium Kórháza, Magyar Honvédség Központi Kórháza, Országos Gyógyintézet Központ, Országos Onkológiai Intézet, Péterfy Sándor utcai Kórház, Semmelweis Egyetem II. sz. Patológiai Intézete, Szent Imre Kórház, Szent István Kórház, Szent Margit Kórház, Uzsoki utcai Kórház, Debrecen, Kenézy Kórház, Debreceni Egyetem Orvos- és Egészségtudományi Centrum, Eger, Megyei Kórház, Győr, Megyei Kórház, Gyula, Pándy Kálmán Megyei Kórház,

Kaposvár, Kaposi Mór Megyei Kórház, Kecskemét, Megyei Kórház, Nyíregyháza, Jósa András Megyei Kórház, Miskolc, Megyei Kórház, Pécs, Megyei Kórház, Pécs, Pécsi Tudományegyetem Patológiai Intézete, Salgótarján, Megyei Kórház, Sopron, Városi Kórház, Szeged, Bay Zoltán Alapítvány, Biomedicinális Osztály, Szeged, Szegedi Tudományegyetem Patológiai Intézete, Szekszárd, Megyei Kórház, Szentes, Városi Kórház, Székesfehérvár, Szent György Megyei Kórház, Szolnok, Megyei Kórház, Szombathely, Markusovszky Kórház, Tatabánya, Megyei Kórház, Vác, Jávorszky Ödön Kórház, Veszprém, Megyei Kórház, Zalaegerszeg, Megyei Kórház.

### Megjegyzés

A Roche (Magyarország) Kft. a vizsgálat ötletét felkarolta, korábban gyűjtött HER2-adatainak összesítését megosztotta a szerzőkkel, szerepet vállalt a festendő metszetek és ezzel egyidejűleg a felkérő levelek valamint értékelőlapok országos terítésében, a festett metszetek és kitöltött értékelőlapok begyűjtésében, egyes résztvevőknél a szükséges primer ellenanyag beszerzésében, valamint biztosította a feltételeket az eredmények nyilvános megbeszéléséhez. A vizsgálat koordinátorai, a jelen közlemény szerzői, az eredmények elemzéséért honoráriumban részesültek.

### Irodalom

1. Ainsworth R, Bartlett JM, Going JJ, et al. IHC for Her2 with CBE356 antibody is a more accurate predictor of Her2 gene amplification by FISH than HercepTest in breast carcinoma. *J Clin Pathol* 58:1086-1090, 2005
2. Bartlett J, Mallon E, Cooke T. The clinical evaluation of HER-2 status: which test to use? *J Pathol* 199:411-417, 2003
3. Cell Markers and Cytogenetics Committees College of American Pathologists. Clinical laboratory assays for HER-2/neu amplification and overexpression: quality assurance, standardization, and proficiency testing. *Arch Pathol Lab Med* 126:803-808, 2002
4. DakoCytomation. HercepTestTM, 8th edition. [http://dist.dako.com/prod\\_downloadpackageinsert.pdf?objectid=105073005](http://dist.dako.com/prod_downloadpackageinsert.pdf?objectid=105073005) (utolsó hozzáférés 2007. 01. 08.)
5. Dank M. Rekombináns humán anti-HER2 monoklonális antitest: egy új célzott terápia az emlőrák kezelésében. *Orvosi Hetilap* 142:2563-2568, 2001
6. Di Leo A, Dowsett M, Horten B, et al. Current status of HER2 testing. *Oncology* 63(Suppl1):25-32, 2002
7. Fitzgibbons PL, Murphy DA, Dorfman DM, et al. Interlaboratory comparison of immunohistochemical testing for HER2: results of the 2004 and 2005 College of American Pathologists HER2 Immunohistochemistry Tissue Microarray Survey. *Arch Pathol Lab Med* 130:1440-1445, 2006
8. Gancberg D, Lespagnard L, Rouas G, et al. Sensitivity of HER-2/neu antibodies in archival tissue samples of invasive breast carcinomas. Correlation with oncogene amplification in 160 cases. *Am J Clin Pathol* 113:675-682, 2000
9. Ginestier C, Charafe-Jauffret E, Penault-Llorca F, et al. Comparative multi-methodological measurement of ERBB2 status in breast cancer. *J Pathol* 202:286-298, 2004
10. Goldhirsch A, Coates AS, Gelber RD, et al. First - select the target: better choice of adjuvant treatments for breast cancer patients. *Ann Oncol* 17:1772-1776, 2006
11. Goldhirsch A, Glick JH, Gelber RD, et al. Meeting highlights: International expert consensus on the primary therapy of early breast cancer 2005. *Ann Oncol* 16:1569-1583, 2005

12. Harvey JM, Clark GM, Osborne CK, et al. Estrogen receptor status by immunohistochemistry is superior to the ligand-binding assay for predicting response to adjuvant endocrine therapy in breast cancer. *J Clin Oncol* 17:1474-1481, 1999
13. Isola J, Tanner M, Forsyth A, et al. Interlaboratory comparison of HER-2 oncogene amplification as detected by chromogenic and fluorescence in situ hybridization. *Clin Cancer Res* 10:4793-4798, 2004
14. Konecny GE, Thomssen C, Luck HJ, et al. Her-2/neu gene amplification and response to paclitaxel in patients with metastatic breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 96:1141-1151, 2004
15. Kulka J, Tokes AM, Kaposi-Novak P, et al. Detection of HER-2/neu gene amplification in breast carcinomas using quantitative real-time PCR – A comparison with immunohistochemical and FISH results. *Pathol Oncol Res* 12:197-204, 2006
16. Lipton A, Ali SM, Leitzel K, et al. Serum HER-2/neu and response to the aromatase inhibitor letrozole versus tamoxifen. *J Clin Oncol* 21:1967-1972, 2003
17. McCann AH, Dervan PA, O'Regan M, et al. Prognostic significance of c-erbB-2 and estrogen receptor status in human breast cancer. *Cancer Res* 51:3296-3303, 1991
18. Osborne CK, Schiff R, Arpino G, et al. Endocrine responsiveness: understanding how progesterone receptor can be used to select endocrine therapy. *Breast* 14:458-465, 2005
19. Ottó Sz, Kásler M. A hazai és nemzetközi daganatos halálozási és megbetegedési mutatók alakulása. *Magyar Onkológia* 49:99-107, 2005
20. Paik S, Bryant J, Park C, et al. ErbB-2 and response to doxorubicin in patients with axillary lymph node-positive, hormone receptor-negative breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 90:1361-1370, 1998
21. Querzoli P, Marchetti E, Fabris G, et al. Immunohistochemical expression of c-erbB-2 in human breast cancer by monoclonal antibody: correlation with lymph node and ER status. *Tumori* 76:461-464, 1990
22. Revillion F, Bonnetterre J, Peyrat JP. ERBB2 oncogene in human breast cancer and its clinical significance. *Eur J Cancer* 34:791-808, 1998
23. Rhodes A, Jasani B, Anderson E, et al. Evaluation of HER-2/neu immunohistochemical assay sensitivity and scoring on formalin-fixed and paraffin-processed cell lines and breast tumors: a comparative study involving results from laboratories in 21 countries. *Am J Clin Pathol* 118:408-417, 2002
24. Sorlie T, Perou CM, Tibshirani R, et al. Gene expression patterns of breast carcinomas distinguish tumor subclasses with clinical implications. *Proc Natl Acad Sci U S A* 98:10869-10874, 2001
25. Tóth J, Cserni G, Kálmán E, et al. Az emlőrák patológiai feldolgozása és kórszövettani leletezése. *Magyar Onkológia* 44:14-16, 2000
26. Vincent-Salomon A, MacGrogan G, Couturier J, et al. Calibration of immunohistochemistry for assessment of HER2 in breast cancer: results of the French multicentre GEPFICS study. *Histopathology* 42:337-347, 2003
27. Vogel CL, Cobleigh MA, Tripathy D, et al. Efficacy and safety of trastuzumab as a single agent in first-line treatment of HER2-overexpressing metastatic breast cancer. *J Clin Oncol* 20:719-726, 2002
28. Wolff AC, Hammond EH, Schwartz JA, 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* 25:1-28, 2007
29. Wright C, Angus B, Nicholson S, et al. Expression of c-erbB-2 oncoprotein: a prognostic indicator in human breast cancer. *Cancer Res* 49:2087-2090, 1989

## HIRDETMÉNY

A MAGYAR PATHOLOGUSOK TÁRSASÁGA ÉS  
A MAGYAR ONKOLÓGUSOK TÁRSASÁGA

## KROMPECHER ÖDÖN

2007. évi pályamunka díjazására **140.000.- Ft** pályadíjat tűz ki az orvostanhallgatók és a fogorvostanhallgatók számára.

A pályamunka címe: **„A familiáris daganatok”**

A pályamunka terjedelme az irodalommal és dokumentációval együtt **maximum 80 oldal** lehet.

A munkán csak a jelige szerepelhet, melyhez mellékelni kell egy borítékot, rajta a jeligével. A lezárt borítékban a nevet, évfolyamot, pontos lakcímet, telefonszámot, e-mail címet kell feltüntetni.

A pályamunka beadási határideje: **2007. november 30.**

Helye: Semmelweis Egyetem II. sz. Patológiai Intézet, 1091 Budapest, Üllői út 93.

Díjazást elért pályázat esetén a Társaságok javaslatot tesznek a pályamunka szakdolgozatként való elfogadására.

Budapest, 2007. március

**MAGYAR PATHOLOGUSOK TÁRSASÁGA és a  
MAGYAR ONKOLÓGUSOK TÁRSASÁGA VEZETŐSÉGE**