DOI:10.3969/j.issn.0253-3626.2011.11.033

体外肿瘤细胞培养及药敏试验对食管癌术后化疗的意义

羽　平，张　智
（重庆市肿瘤研究所胸外科，重庆　400030）

【摘　要】目的：通过对食管癌术后体外肿瘤细胞培养以及对不同药物及化疗方案的敏感性进行比较，寻找各自有效的、合理的化疗方案，指导食管癌的术后化疗。为个体化治疗提供理论依据。方法：采用组织块培养-终点染色-计算机图像分析（Tissue culture end point staining computer image analysis，TECIA）法对 94 例食管癌组织标本进行体外培养，并用 8 种常见化疗药物进行药物敏感性试验，了解其对肿瘤的抑制率，并将结果进行比较。结果：试验药物对食管鳞癌的抑制率各不相同，以紫杉醇类最高，阿霉素最低；单药与联合化疗方案的抑制率比较有显著差异，联合药敏感性高于单药。结论：食管癌的术后化疗，应根据每个食管鳞癌患者肿瘤的药敏结果，尽量选择敏感药物及联合用药的化疗方案。

【关键词】食管癌；肿瘤药敏试验
【中国图书分类法分类号】R979.1　　【文献标志码】A　　【收稿日期】2010-10-26

The significance of the tumor cell cultured and drug sensitivity test after esophagectomy chemotherapy

YU Ping, ZHANG Zhi
(*Department of Thoracic Surgery, Chongqing Cancer Institute*)

【Abstract】*Objective*: To guide for searching an effective and reasonable individualized chemotherapy after esophagectomy by the tumor cell cultured and tumor drug sensitivity test. *Methods*: compared with the inhibitory rate of tumor drug sensitivity test of 94 cases with esophageal cancer, intervered with 8 chemotherapy drugs used commonly in clinic, was determined by TECIA method. *Results*: The inhibitory rate of 8 chemotherapy drugs are different, PTX obtain best therapy effect, and ADM's effect is minimum, and the combined chemotherapy effect is obvious better than a sole chemotherapy. *Conclusion*: The tumor drug sensitivity test have important value to determine the postoperative chemotherapy, and the treatment should select most sensitive drugs and combined chemotherapy.

【Key words】esophageal carcinoma; tumor drug sensitivity test

食管癌我国常见的消化系统恶性肿瘤。近年来发病率呈上升趋势。虽然采取手术、放疗、化疗等综合治疗，但疗效不理想。5 年总生存率 10%~20%。原因主要为肿瘤控制失败、转移及复发。寻找有效的治疗方案，已成为医务工作者共同的目标。化疗作为一个重要的环节，近年来取得了明显的进展。对辅助化疗和新辅助化疗价值的认识已得到充分的肯定。如何选择有效药物，提高化疗效果，寻找用药规律，一直是肿瘤化疗非常关注的问题。我们采用组织块培养-终点染色-计算机图像分析法（Tissue culture end point staining computer image analysis，TECIA）[1] 法对 94 例食管癌患者手术后进行肿瘤组织培养以及药敏试验。并进行相互比较。以指导术后化疗。

作者介绍：羽　平（1956-），男，副主任医师，
研究方向：食管癌的综合治疗。
通信作者：张　智，男，研究员，Email：775410098@qq.com。
基金项目：重庆市卫生局医学科研资助项目（编号：2007-2-187）。

1　材料与方法

1.1　标本来源

2006 年 6 月至 2009 年 8 月。在我院胸外科行食管癌切除术 94 例患者的新鲜肿瘤组织标本。术后均经病理证实为鳞癌。其中食管上段癌 11 例；食管中段癌 54 例；食管下段癌 29 例；患者年龄 20~73 岁。男性 82 例；女性 12 例。

1.2　试剂

化疗药物来源（公司）；MTT 购自美国 Sigma 公司；我们选择常用的 8 种药物。顺铂（Cisplatin，DDP）2.5 μg/ml，购于山东罗欣药业股份有限公司；5 氟尿嘧啶（5-fluorouracil，5-Fu）60.0 μg/ml，购于天津金耀氨基酸有限公司；阿霉素（Adriamycin，ADM）2.3 μg/ml，购于深圳万禾公司；长春地辛（Vindesine，VDS）0.5 μg/ml，购于山东罗欣股份有限公司；紫杉醇（Paclitaxel，PTX）20 μg/ml，购于江苏奥赛康药业有限公司；奈达铂（Nedaplatin，NED）0.5 μg/ml，购于齐鲁制药有限公司；

多西紫杉醇(Docetaxl,TAX)15.0 μg/ml,购于深圳海王药业有限公司;健择(Gemzar,GEM)30.0 μg/ml,购于江苏豪森药业股份有限公司。

联合药是待操作时用已配好的所要求的各单药等量混合。6 种药物联合方案分别为 5-Fu+DDP;5-Fu+NED;PTX+DDP;PTX+NED;TAX+DDP;TAX+NED。

1.3 *方法*

用体外肿瘤 TECIA 法大致流程为:

处理收到的新鲜肿瘤组织标本(灭菌)-组织切块(0.5~1.0 mm^3)-吸取混有组织块的培养基滴加在培养孔内滤纸中央,每孔 4~5 块组织-放入培养箱(24 h)-用图像分析仪测定初始面积-分组加入化疗药物,再培养 96 h,取出 24 孔板,每孔滴加 25 μl MTT 液,继续培养 4 h,将每孔中滤纸连同组织小心取出, 放入培养盖板的相应位置-图像分析仪测定终点面积-计算机软件分析实验结果,计算抑制率[1]。

IR-化疗药物抑制率(Inhibition rate);BA-终点面积(Blue area)

计算公式:IR%={1-[(BA 处理/A 处理)/(BA 对照/A 对照)]}×100%。

结果判断:抑制率大于 50%为高度敏感;30%~50%为中度敏感;小于 30%为耐药。

总药敏感率(%)=(敏感标本/该组总标本)×100%

1.4 *统计学方法*

统计学方法采用 SPSS13.0 进行统计分析,计量资料 *Student t* 检验分析单药和联合药之间的差异,单因素方差分析均数之间的差异及两两比较;计数资料用 χ^2 检验。

2 结 果

2.1 *94 例食管癌体外肿瘤组织培养及药敏试验结果*

94 例食管癌标本全部试验成功,我们根据情况每例标本选择 4~6 种化疗药物。个别药物例数太少,失去统计学意义(剔除 VDS、GEM)。有待于以后补充、完善。见表 1、2。

表 1 94 例食管癌体外肿瘤细胞培养及药敏试验结果

	DDP	5-Fu	ADM	VDS	PTX	NED	TAX	GEM
<30%	8	7	15	0	0	3	0	1
30%~50%	81	78	57	2	74	73	6	0
>50%	2	8	1	0	19	13	3	1

表 2 单药与联合化疗方案的抑制率

单药化疗	抑制率(%)($\bar{x}\pm s$)	联合化疗	抑制率(%)($\bar{x}\pm s$)
DDP	34.2 ± 4.9	5-Fu+DDP	51.6 ± 13.3
5-Fu	40.9 ± 10.5	5-Fu+NED	52.8 ± 19.6
ADM	31.4 ± 12.8	TAX+NED	61.7 ± 18.5
PTX	41.8 ± 11.2	PTX+NED	57.3 ± 14.2
NED	43.8 ± 16.9	TAX+DDP	58.5 ± 16.6
TAX	45.4 ± 13.8	PTX+DDP	59.1 ± 17.3

用 SPSS13.0 对相关资料各组抑制率原始数据试作统计描述和正态性检验,explore 和单样本 *K-S* 检验[以 DDP 单药抑制率(%)为例]结果分析如下。

2.1.1 图示法检验正态结果

2.1.1.1 直方图分析 基本呈现以均数为中心,两侧对称的钟形分布,样本数据符合正态分布(图 1)。

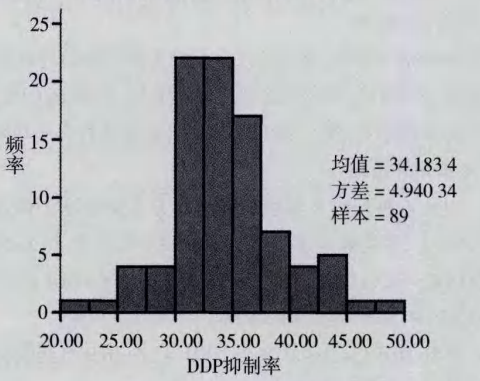


图 1 试验药物直方图分析

2.1.1.2 正态概率图分析 散点基本聚集在正态期望线上,样本数据符合正态分布(图 2)。

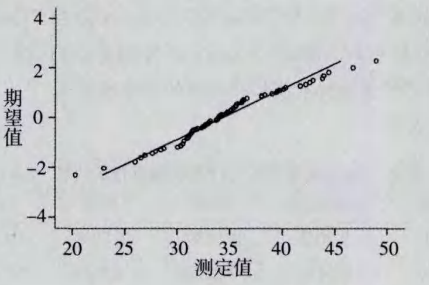


图 2 DDP 抑制率正态概率图

2.1.1.3 箱式框图分析 中位数线基本在框体中间,样本数据符合正态分布(图 3)。

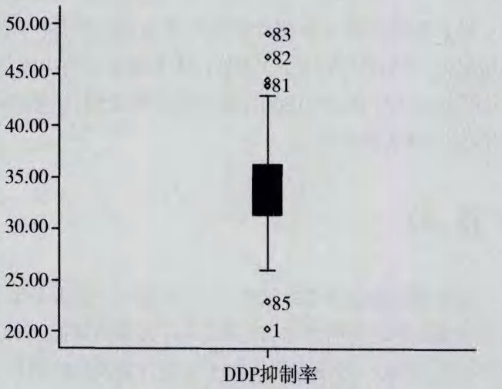


图 3 试验药物箱式框图

2.1.2 统计检验法检验正态性结果

均值=34.183 4,中位数=33.900 0,两者基本接近,表明数据分布对称性较好。极小值=20.30,极大值=48.90,离均数=34.183 4 的距离相近,表明数据分布对称性较好。本例有两

个离群值，去除 5%极端值后的均值=34.100 9，与均值=34.183 4 很接近，说明数据的分布对称性比较好。偏度系数=0.372，接近 0，标准误=0.255，故 ZSKEU=0.229 3；峰度系数=0.987，标准误=0.506，故 ZKURT=0.533 8，因此均不拒绝相应的原假设，可以认为分布为正态。由正态性检验表格可见：*K-S* 检验、*W* 检验均显示概率大于显著性水准，可以认为分布为正态。

2.2 *Student t* 检验

经 *Student t* 检验，单药与联合化疗方案的抑制率比较有显著差异，P=0.036，联合药的平均抑制率为(56.4±16.0)%，单药的平均抑制率为(36.6 ± 13.3)%，联合药敏感性高于单药。

2.3 方差分析检验

2.3.1 以上 6 种药物及其组成的化疗方案抑制率个体差异显著，P<0.01，平均抑制率由高到低的顺序依次为 TAX+NED >PTX+DDP>TAX+DDP>PTX+NED>5-Fu+NED>DDP+5-Fu> TAX>NED>PTX>5-Fu>DDP>ADM。

2.3.2 单药 DDP(34.2±4.9)%与 NED(43.8±16.9)%药物抑制率比较无显著差异，P=0.715。

2.3.3 单药 PTX(41.8±11.2)%与 TAX(45.4±13.8)%药物抑制率比较无显著差异，P=0.831。

2.3.4 6 组联合化疗药物的抑制率两两比较下列 4 组无显著性差别，PTX+DDP 与 TAX+DDP，TAX +NED 与 PTX+ NED，TAX +NED 与 TAX+DDP，5-Fu+NED 与 DDP+5-Fu，均 P>0.05。

2.4 该组食管癌标本对化疗药物的敏感性结果

见表 3。

表 3 94 例食管癌对化疗药物敏感性的比较 (%/*n*)

药物	高度敏感	敏感	耐药	总敏
DDP	2.20/2	89.01/81	8.79/8	91.21/91
5-Fu	8.61/8	83.87/78	7.53/7	92.47/93
ADM	1.37/1	78.08/57	20.55/15	79.45/73
PTX	20.43/19	79.57/74	0.00/0	100.00/93
NED	14.61/13	82.02/73	3.37/3	96.63/89
TAX	33.33/3	66.67/6	0.00/0	100.00/9

经 χ^2 检验所得 6 种化疗药物及其组成的联合化疗方案的敏感性不同(χ^2=89.43，P=0.000)，其中单药组间比较，敏感性有差别(χ^2=35.78，P=0.000)；联合药组间比较，敏感性亦有差别(χ^2=27.60，P=0.001)。

3 讨 论

在食管癌的综合治疗治疗中，化疗是一个重要环节。由于抗肿瘤药物的不断增加，在传统化疗方案的基础上引入新化疗药物，形成一些新方案。对于这些方案及药物的疗效一直颇受关注。需要进行抗肿瘤药物体外敏感性试验。TECIA法是在肿瘤组织培养药物敏感试验(Histoculture drug response assay，HDRA)[2]基础上发展起来的。HDRA 在肿瘤药敏试验方面得到广泛应用[3,4]TECIA 与普通 HDRA 比较，应用计算机软件作图像分析方法更稳定，重复性好，试验周期短(5 d)，所需标本量少，可评价率高(90%以上)，采用组织块培养能更好地模拟肿瘤的体内生长环境，自动化程度高(电脑软件自动统计数据并配有图像分析系统)，结果直观可靠(通过测定用药后存活癌组织面积获得化疗药物的抑制率)能更准确地测定肿瘤组织对化疗药物的敏感性，江苏先声药业有限公司与本院临床检验中心合作，在本院开展 TECIA，已检测 400 多例标本，对临床肿瘤个性化化疗起到了很好的指导作用。本组病例用 94 例食管癌患者手术后的新鲜肿瘤组织标本，进行肿瘤组织培养以及药敏试验。以了解常用化疗药物对每个具体肿瘤的敏感性。为术后化疗药物的选择提供理论依据。实现真正的个体化治疗。

肿瘤是一个多形态、异质性、多分化程度的细胞群体。对各种化疗药物的敏感性存在明显的个体差异。化疗疗效总体上不尽人意。目前还没有某一种或几种化疗药物的联合应用，能对某一种肿瘤 100%有效[5,6]。因此，建立肿瘤体外细胞培养，并通过相对可靠药敏试验方法，对不同的病人准确筛选敏感的化疗药物，并确定其剂量，真正实现临床用药的个体化，以提高化疗的靶向性及疗效，减少不良反应，降低细胞耐药性，成为目前治疗肿瘤迫切需要解决的问题。应用 TECIA作抗癌药物药敏试验，可能是一个较好的方法。

化疗药物在体内的作用和代谢是一个复杂的过程。很多因素影响化疗的效果[7]。肿瘤细胞的多药耐药(Multidrug resistance，MDR)也是化疗失败的主要原因之一[8]。MDR 是一个多因素参与的复杂过程，可以直接影响化疗疗效。体外肿瘤组织培养以及药敏试验虽然能反映化疗药物对肿瘤细胞的敏感性，但不一定与体内的效果完全一致。TECIA 法是接近于在体内状态的体外肿瘤药敏试验可评估率高，对临床制定合理的化疗方案，有指导意义。

比较本组试验结果：提示 6 种单药对食管鳞癌的敏感性各不相同，单药以紫杉醇类最高，阿霉素最低；所有单药组间比较，敏感性不同；联合用药方案 TAX+NED 敏感性最高，DDP+5-Fu 敏感性最低，所有联合用药组间比较，敏感性亦不同。其总体趋势为联合化疗用药的敏感性高于单药化疗的敏感性，由此亦证实了，临床化疗应尽量选择联合化疗的治疗方案。

根据 *Student t* 检验 DDP 与 NED 比较无显著差异；PTX 与 TAX 比较无显著差异；紫衫醇类与氟脲密啶和铂类药物组成的化疗方案对肿瘤的抑制率比较无显著差异。与目前采用的化疗方案一致。因此，我们认为在食管鳞癌的化疗中，方案 5-Fu+DDP；5-Fu+NED；PTX+DDP；PTX+NED；TAX+DDP；TAX+NED；均有较好的疗效。根据 χ^2 检验，肿瘤细胞对各单药、各联合药组间的敏感性有明显差别。也就是说，肿瘤细胞在对一种药物或方案不敏感的同时，可能对另一种药物或方案敏感。可以根据药敏试验选择抑制率相对高的药物。只是由于各药物副作用不同，我们倾向于 PTX+NED；TAX+NED方案。当然，在具体治疗中还应该按照个体化治疗的原则。根据疾病分期、医疗条件、患者的体质、对药物的耐受性、经济条件、以及患者愿望等灵活应用。

临床研究 DOI:10.3969/j.issn.0253-3626.2011.11.034

替吉奥胶囊联合奥沙利铂、伊立替康/亚叶酸钙治疗晚期胃癌疗效分析

陈　静[1],潘兴国[2],牛焕义[3],林　源[1],黄之杰[4],张　汝[1]

(1. 成都军区总医院干部病房　成都　610083;2. 成都军区总医院放疗科　成都　610083;3. 成都军区总医院肿瘤科　成都　610083;4. 成都军区总医院核医学科　成都　610083)

【摘　要】目的:观察替吉奥(S1)胶囊联合奥沙利铂与伊立替康/亚叶酸钙治疗晚期胃癌的临床疗效及毒副反应。方法:48 例晚期胃癌患者,采用以下化疗方案:替吉奥胶囊 80 mg/m²,餐后口服,每天两次,连续服用 2 周,停药 1 周;奥沙利铂 130 mg/m²,静脉滴注 3 h,d1;伊立替康 80 mg/m²,d1、d15,5 周重复;亚叶酸钙 200 mg/m²,静脉滴注 d1、d15,28 d 为 1 个周期,至少进行 2 个周期。按 RECIST 1.1 标准评价联合治疗的效果和不良反应。结果:48 例患者均可以评价。完全缓解(CR)(complete remission)5 例(10.4%),部分缓解(Partial remission,PR)23 例(47.9%),病情稳定(Stable disease,SD)12 例(25.0%),病情进展(Progression disease,PD)8 例(16.7%),药物的有效治疗率(Response rate,RR)(58.3%),统计疾病控制率(Disease control rate,DCR)(83.3%)。中位疾病进展时间(Median time to progression,TTP)为 8.9 个月,中位生存期(Median survival time,MST)为 12.3 个月。不良反应主要是外周神经毒性、白细胞减少、中性粒细胞下降、胃肠道反应。结论:替吉奥胶囊联合奥沙利铂、伊立替康/亚叶酸钙治疗晚期胃癌疗效显著,毒副反应能耐受,明显提高患者生活质量,值得临床推广应用。

【关键词】胃癌;替吉奥;奥沙利铂;伊立替康;亚叶酸钙

【中国图书分类法分类号】R735.2　　【文献标志码】A　　【收稿日期】2011-5-29

Clinical study of SI, oxaliplatin, irinotecan and leucovorin combination chemotherapy in advanced gastric cancer

CHEN Jing[1], PAN Xing-guo[2], NIU Huan-yi[3], LIN Yuan[1], HUANG Zhi-jie[4], ZHANG Ru[1]

(1. Cadres Ward of General Hospital of Chengdu Military Command of PLA; 2. Department of Radiotherapy of General Hospital of Chengdu Military Region of PLA; 3. Department of Cancer of General Hospital of Chengdu Military Command of PLA; 4. Department of Nuclear Medicine of General Hospital of Chengdu Military Command of PLA)

【Abstract】*Objective*: To investigate the efficacy and safety of S1, oxaliplatin, irinotecan and leucovorin combination chemotherapy in advanced gastric carcinoma. *Methods*: 48 patients with advanced gastric cancer were enrolled. Patients receiving S1, at 80 mg/m², was orally administered twice daily for 2 weeks, fol-

作者介绍:陈　静(1964-),女,副主任医师,研究方向:胃肠道肿瘤研究。

通信作者:张　汝,女,副主任医师,Email:chenjinglinyuan@126.com。

参　考　文　献

[1] 梁永钜,潘启超,麦伟源,等.鼻咽癌体外药物敏感试验方法的初步研究[J].癌症,1996,15(3):216-218.

[2] Hoffman R M.Three dimlnsional histoculture criqins and applcation in cancer research[J].Cancer cells,1991,3(6):86-92.

[3] Shin Wha Lee,Yong-Man Kim,Moon-Bo Kim,et al.Chemosensitivity of llterine lervical cancer demonstrated by the histoculture drug response ASSAY [J].Tokoku Journal expression Med,2009,219(2):277-282.

[4] Singh B,Lir U L.Prediction of survival in patiens with hcad and neck cancer using the histoculture drug response assay[J].Head Neck,2002,24(5):437-442.

[5] 张银霞,于　兰,吕同德,等.肿瘤药敏试验方法与临床应用[J].医学综述,2003,9(1):34-35.

[6] 刘　敏,吕　鹏,于志红,等.消化道癌原代培养体外药敏实验的研究[J].中国微生态,2006,18(6):468-470.

[7] 刘　敏,王朝晖,李　玲.癌细胞原代培养对化疗药物敏感性的探讨[J].中国微生态,2008,20(3):241-245.

[8] Nishio K,Nakamura T.Conquering drug resistance in lung cancer [J].Nippon Rinsho,2000,58(1):1011-1017.

(责任编辑:关蕴良)