

·综述·

肿瘤药敏试验指导个体化治疗的研究进展

米彦军, 张传钊, 符立梧*

(中山大学肿瘤防治中心华南肿瘤学国家重点实验室, 广东 广州 510060)

摘要: 肿瘤患者对化疗的反应不尽相同, 为了实现化疗的个体化、提高化疗的疗效, 肿瘤药敏试验已逐渐在研究所和医院中开展。肿瘤药敏试验有助于为患者选择有效的化疗药物和制定合理的治疗方案, 并能排除无效药, 实现化疗药物 (方案) 个体化。目前, 肿瘤药敏试验已发展为体内和体外两大系列 10 多种药敏试验, 包括分离肿瘤单细胞体外培养法 (MTT、MTS、ATP 等不同检测方法)、裸鼠移植瘤模型法、胶原凝胶包埋培养法和微组织块培养法等。本文将就肿瘤药敏试验的常用方法、与临床结果的相关性研究、待解决的问题及应用前景等方面进行综述。

关键词: 肿瘤; 药敏试验; 个体化治疗

中图分类号: R730.5

文献标识码: A

文章编号: 0513-4870 (2009) 11-1187-06

Progress of individualized chemotherapy guided by chemosensitivity test

MI Yan-jun, ZHANG Chuan-zhao, FU Li-wu*

(State Key Laboratory of Oncology in South China, Cancer Center, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510060, China)

Abstract: In spite of receiving chemotherapy, the response of patients with cancer can be extremely variable. Chemosensitivity testing is being applied in institutes and some hospitals to improve the effects of chemotherapy. It would be useful for choosing the most effective drug and strategy for individual chemotherapy and to exclude the resistance of the tumor cells. In this way, the individualized chemotherapy can be established. Up to today, there are more than 10 approaches established for chemosensitivity testing assays, such as single cell culture assay (including MTT, MTS, ATP), nude mouse model sensitivity examination, collagen gel droplet embedded culture drug sensitivity test and histoculture drug response assay *etc.* This paper reviews some current methods, and their possibility for directing clinical chemotherapy.

Key words: tumor; chemosensitivity testing; individualized chemotherapy

化学治疗是治疗肿瘤的一种重要手段。但由于遗传背景的差异, 患者对化疗的反应各不相同, 有的患者经化疗后可达到完全缓解, 有的却表现为无效甚至病情进展。不同种类的肿瘤, 对抗癌药物的敏感性不同, 即使同一种类型的肿瘤, 甚至其临床分期、病理类型、患者基本状态也相同, 不同的患者对药物的敏感性及其预后也不相同, 这就决定了必须化疗药物个体化。在治疗前或治疗过程中进行肿瘤药敏试

验对于化疗药物的选择和制订化疗的策略有着十分重要的意义, 为实现化疗药物的个体化提供依据^[1-5]。

早在 1953 年, Black 和 Speer 首先进行了肿瘤药敏试验, 但由于检测技术的落后, 指导临床可靠性差, 并没有得到广泛的开展^[6]。近年来, 由于分子生物学、细胞生物学技术的不断发展, 国内外学者不断寻找简便易行、准确可靠的化疗药物敏感性检测方法, 并相继创建了一系列体内外预测肿瘤化疗药物敏感性的方法, 目前已发展为体内和体外两大系列 10 多种药敏试验, 并不断地进行改善, 趋向简单、快速、可靠的特点。

收稿日期: 2009-05-04.

基金项目: 广州市科技攻关项目 (2007Z3-E4121).

*通讯作者 Tel: 86-20-87343163, Fax: 86-20-87343170,

E-mail: fulw@mail.sysu.edu.cn

1 肿瘤药敏试验指导化疗药物个体化

在日本抗癌药研究会对抗癌药敏感性试验进行的一次调查中,把2份不同的问卷分别寄到122和94个研究所,分别收到了87和41个研究所的回复^[7]。回复结果表明有42个研究所在进行肿瘤药敏试验,其中包括2种体内和10种体外试验。统计结果显示,在这些研究所进行的1101例药敏试验中有47%真阳性率,93%真阴性率和74%的准确率。1999年日本卫生部正式允许肿瘤药敏试验作为一种“先进的临床医学技术”在医院中进行,2005年被批准进行此研究的机构已多达11个。由此可见,药敏试验在日本开展得较为广泛,而且有较高的准确率,可能在临床治疗中发挥作用。

美国肿瘤学会就2004年之前发表的关于肿瘤药敏敏感试验和耐药性试验的论文进行了比较分析^[8],认为药敏试验的应用对实现化疗药物/方案个体化具有积极的作用。Samson等^[9]做了一个系统综述,以比较药敏试验指导下的化疗和经验治疗的疗效。这个系统综述分析了10个符合纳入标准的前瞻性研究和1个回顾性研究。在这些研究中,有5个非随机试验和1个随机试验发现药敏试验指导下的化疗具有更高的有效率,且具有统计学意义。

肿瘤药敏试验指导下的临床化疗有助于改善患者的生存期,是最近几年备受关注的课题。Nakamura等^[10]把202个III或IV期胃癌手术后的患者按MTT药敏试验结果分为药物敏感组、药物不敏感组和非化疗组,对这3组患者的生存率进行了探讨。结果显示,在III期患者中,药物敏感组的生存率比其他两组的生存率明显高。在IV期患者中,以是否有腹膜播散分成亚组后也得到与III期患者相似的结果。所以,他们认为MTT试验指导下的化疗有助于提高胃癌患者的生存率。在另外两项研究中也发现,在药敏试验指导下进行化疗的患者有更高的生存率^[11,12]。在Ugurel等^[13]进行的药敏试验对黑色素瘤预后影响的II期临床研究中,他们招募了82个黑色素瘤患者,其中57个患者进行了ATP-TCA指导下的化疗,并顺利对53人进行完整的追踪。研究结果显示,试验敏感组和抵抗组对化疗的有效率分别为36.4%和16.1% ($P=0.114$),停止进展(完全缓解+部分缓解+病情稳定)所占的比例分别为59.1%和22.6% ($P=0.01$),总生存率分别为14.6个月和7.4个月 ($P=0.041$)。该研究说明ATP-TCA指导下的个体化化疗有良好的疗效。

许多学者的体外药敏试验研究结果同时强调药

物的敏感性和耐药性的检测是不等价的,耐药性的检测准确率往往高于敏感性的准确率。Fruehauf等^[14]报道,对220例乳腺癌和284例卵巢癌药敏试验的结果检测到乳腺癌化疗药物的耐药性准确率的范围是86%~100%,而敏感性准确率的范围是47%~91%;卵巢癌化疗药物的耐药性准确率的范围是62%~100%,敏感性准确率的范围是58%~91%。由此可见肿瘤细胞的体外药敏试验耐药性的检测更有价值,因为根据耐药试验可以排除无效药,避免药物的副作用和不必要的花费。

综上所述,肿瘤药敏试验在指导化疗药物/方案个体化方面具有重要的作用。但是肿瘤药敏试验的方法不同,其成功率、可靠性也不一样,导致临床符合率不同。

2 肿瘤药敏试验方法

肿瘤药敏试验已发展为体内和体外两大系列10多种常用方法。

2.1 单细胞体外培养法 以胶原酶、胰酶或机械法将肿瘤组织分离出单细胞悬液,以单细胞悬液加测试药物进行培养,以观察克隆形成、MTT、MTS颜色、ATP荧光值、放射性掺入变化测定等不同检测终点,评价肿瘤细胞对药物的敏感性(表1)。其中最常用的方法有MTT、MTS、ATP法。该类方法一般来说具有检测方法简单、无需特殊设备、便于开展,实验时间短等特点。但成功率低、指导临床选择化疗药物/方案与临床结果符合率低、可靠性差。这是因为原代细胞分离成单细胞后,不容易培养生长,大多数细胞加或不加药物均发生“失巢”凋亡(anoikis)。这可能是长期以来临床医生未能接受药敏指导化疗的主要原因。

总之,该类方法未能模拟体内微环境,不能对经肝酶代谢后产生抗癌作用的药物如环磷酰胺等进行药敏试验。尽管检测的手段不同,但原代单细胞培养将成为该类方法的瓶颈,制约着该类方法的成功率和可靠性,且不可避免地混杂有肿瘤间质细胞如成纤维细胞(常较肿瘤细胞更易生长)等,可能对药敏试验的结果有影响。

2.2 人肿瘤细胞原代裸鼠移植瘤模型法 为了模拟体内的环境,人们将肿瘤组织块接种于裸鼠的皮下或肾包膜下,建立裸鼠移植瘤模型。由于裸鼠因缺乏T淋巴细胞,异种移植时排斥反应不明显,进行人肿瘤移植时,可保持原有的生物学特性及对抗癌药物的敏感性,也可评估经代谢后起作用的药物敏感性,是进行肿瘤药敏试验的良好模型。1969年,Rygard

表 1 体外药敏试验基本方法

方法名称	基本描述
克隆形成法 ^[15] (HTCA)	利用肿瘤细胞悬液,置于双层琼脂中培养,通过选择性加入化疗药物培养后,计数细胞繁殖形成的集落数目,再评估肿瘤细胞对该药的敏感性
四氮唑盐法 (MTT)	活细胞线粒体中的琥珀酸脱氢酶能够代谢还原噻唑蓝为蓝色不溶于水的formazan结晶,通过酶标仪测定其在570 nm处的吸收度,其生产量与药物作用后的细胞数目和细胞活性呈正相关
三磷酸腺苷生物发光法 (ATP-TCA)	ATP体外药敏试验的原理是细胞内ATP与荧光素-荧光素酶复合物作用产生可测定荧光,检测荧光值计算出ATP量可反映活细胞数
区别染色细胞法 (DISC)	该法利用快绿使短期培养(4 d)的死细胞着色,同时加入鸭红细胞作为内计数标准,以药物处理组与对照组残存肿瘤细胞的比值作为评价药物敏感性的指标,以残存肿瘤细胞小于50%作为体外敏感的界限
放射性标记代谢物前体掺入法	通过测定一定时间内同位素(如 ³ H-TdR)标记的代谢物前体掺入的多少来判断药物对细胞增殖活性的抑制作用

和 Povlsen 等首次将人结肠癌细胞植入裸鼠皮下获得成功,之后许多研究者采用裸鼠皮下移植法研究人胃癌、乳腺癌、肺癌等肿瘤对抗癌药物的敏感性,证实当给予荷瘤裸鼠有效药物时,移植物的化疗敏感性能够从本质上反映肿瘤患者的化疗敏感性。Fiebig 等^[16]报道了用此法指导 36 例实体瘤患者的化疗,结果显示裸鼠移植瘤法对抗癌药耐药性预测的准确率达 97%,敏感性预测准确率达 92%。但该方法的可评价率低,El-khoury 等^[17]研究人类肺癌裸鼠移植瘤的试验表明,在体外已建立肺癌细胞系的移植成功率达 90%,而新鲜肺癌实体瘤的裸鼠移植成功率只有 40%,甚至更低;同时该法操作复杂、要求 SPF 级的动物实验室、移植瘤生长慢、实验耗时长(30~40 d)、费用昂贵等,不适合常规用于临床药敏试验,现仅用于新药测试。

2.3 胶原凝胶包埋培养法 为了更好地模拟体内微环境,Kobayashi建立了胶原凝胶包埋培养法(collagen gel droplet embedded culture drug sensitivity test, CD-DST法),该法首先通过酶消化获得单细胞成分,再将细胞包埋于胶原凝胶中,构成与体内相似的微环境进行三维培养,之后加入化疗药物共同培养,利用图像分析系统计算肿瘤细胞体积的变化,来评价肿瘤对化疗药物的敏感性。Kobayashi对 183 例实体肿瘤进行CD-DST研究,表明真阳性率为 79.8%,真阴性率为 88.8%,敏感度与特异度分别为 88.2%和 80.6%,总体预测准确率为 84.1%。Nagai等^[18]对 86 例子官癌

和卵巢癌病例进行了临床相关性研究,统计结果表明 CD-DST 法对不同肿瘤标本的总体评价率为 82%,准确率为 79.8%。Kawamura 等^[19]研究 CD-DST 在非小细胞肺癌化疗中的应用,结果显示,用 CD-DST 指导用药的患者治疗有效率明显高于不做药敏试验、按传统化疗方案给药的对照组,22 例应用敏感药物的患者,临床治疗有效的为 16 例,中位生存期为 15 个月;11 例按传统化疗方案给药的患者,临床治疗无一例有效,中位生存期仅为 6 个月。Takamura 等^[20]以 CD-DST 指导 70 例乳腺癌患者的临床治疗,其中 59 例标本可评价,标本评价率为 84.3%。32 例对药物敏感的患者,临床治疗有效 28 例;27 例对药物抵抗的患者,临床治疗有效的仅为 1 例。另外,在 20 例可评价的乳腺癌复发的患者中,药物敏感组患者的中位缓解期为 15.9 个月,药物抵抗患者的中位缓解期为 2.5 个月。Maniwa 等^[21]报道 1 例以阿霉素为基础的化疗失败的弥漫性恶性胸膜间皮瘤IV期患者,采用 CD-DST 选药进行常规剂量化疗,使该患者的疾病稳定期(SD)延长,提示对弥漫性恶性胸膜间皮瘤患者,即使在无标准方案存在的情况下,运用药敏试验检测能够选择有效且可耐受的治疗方案。Higashiyama 等^[22]也用该方法指导了 14 例恶性胸膜间皮瘤化疗,使用敏感药物的 10 例患者中,3 人部分缓解,4 人病情稳定,3 人疾病进展;而使用不敏感药物的 4 人中,1 人病情稳定,3 人疾病进展。

该法目前在广泛地应用,但成功率仍不高,费用贵。

2.4 微组织块培养法 由于以上方法均须分离细胞,破坏了组织结构的完整性,影响了肿瘤细胞之间的相互联系,导致结果欠可靠。为此,Hoffman于 20 世纪 90 年代初建立组织块培养法(histoculture drug response assay, HDRA)。该法是将肿瘤组织以组织块的形式在胶原上进行培养,然后加入化疗药物,观察组织块对化疗药物的敏感性。其特点是保持细胞间接触,维持了组织形态和功能,更加接近机体实体瘤内环境,临床效果相关性好,非常适用于临床应用。研究表明HDRA法可有效指导临床化疗用药,提高多种肿瘤的临床疗效,例如卵巢癌、乳腺癌、肺癌、食管癌、骨肉瘤、头颈部鳞癌等^[23-26]。Tanahashi等^[27]报道了 70 例肺癌患者用HDRA法检测药敏,其中 16 例III期肺癌患者接受了诱导化疗,39 例III期肺癌患者接受了辅助化疗,均按照两种敏感药物化疗、一种敏感药物化疗、不敏感药物化疗分成 3 组。结果发现对

于采用诱导化疗者, 3组的有效率分别为100%、50%和0%, 两种敏感药物化疗组的3年存活率高于后两组。对于采用辅助化疗者, 两种敏感药物化疗组具有更高的存活率 ($P = 0.03$), 提示HDRA指导的化疗有助于提高临床疗效和生存时间。Gallion等^[28]应用HDRA法预测23例接受含顺铂方案化疗的III期和IV期子宫内膜癌的化疗疗效, 其中7例对铂类药物敏感的患者无复发; 16例对铂类药物低敏感的患者, 在6个月内有8例复发或疾病恶化。而且高敏患者5年无疾病进展生存率为100%, 低敏患者的5年无疾病进展生存率为42.9%, 两者有显著性差异。Yoshimasu等^[29]报道在359例肺癌标本进行的实验中HDRA的可评价率是97.4%, 真阳性率和真阴性率分别是73.2%和100%, 总准确率是83.0%。在他们随后对22例非小细胞性肺癌标本的研究中也发现, HDRA可用于评价非小细胞性肺癌对吉非替尼的敏感性^[30]。Pathak等^[31]用HDRA在57例口腔癌患者中进行肿瘤药敏试验, 也取得了74%的准确率。另外, Yuan等^[32]报道了用HDRA检测到胃癌对表柔比星的敏感性与多药抗性基因的关系。

中山大学符立梧、梁永钜等对此方法进行了改良, 已成功建立了一种微小组织块培养-MTT 终点染色-计算机图像分析体外药物敏感性试验法。该方法采用体外肿瘤组织块培养, 通过分析给药前和给药后肿瘤组织面积及颜色的变化, 获得多种单药或联合用药以及不同药物浓度下的肿瘤生长抑制率。目前已用此法检测肝癌、卵巢癌、胃癌、头颈部肿瘤等实体瘤数百例, 取得良好的效果, 其检测结果总符合率达85.7%^[33, 34]。

该法是目前较理想的肿瘤药敏试验方法, 具有方法模拟体内微环境、稳定、重复性好、标本需要量少、实验耗时短(5 d)、可评价率高、结果直观可靠等优点, 将被广泛应用。

近年来, 国内外许多学者对肿瘤患者的外周血白细胞(PBL)和肿瘤细胞这两者对各种化疗药物敏感性的相关性进行了大量的研究^[35, 36], 结果显示多种肿瘤患者的PBL与肿瘤细胞体外药敏检测具有较好的相关性, 而且肿瘤患者的PBL和肿瘤细胞一样, 对不同的药物敏感性不一样, 都具有个体差异。因此, 在临床上对无法取到肿瘤标本进行药敏检测的患者, 可考虑取外周血淋巴细胞代替, 这样可提高药敏试验的临床适用性, 但仍需广泛验证。药物基因组学与药敏试验相结合在指导肿瘤化疗方面也取得

了明显的效果, 如结肠癌患者胸苷合成酶(TS)基因多态性与5-Fu的疗效相关, 研究表明TYMS*2/*2或TYMS*2/*3型的患者比TYMS*3/*3型对5-Fu的敏感性更高且毒副作用更小^[37]。Chang等^[38]最新研究发现MDR1 SNPs与紫杉醇的药效相关: 与MDR1 3435 CC基因型相比, 3435 CT预示着接受单一紫杉醇治疗的晚期乳腺癌患者的总体生存率更短。表皮生长因子受体(EGFR)酪氨酸激酶抑制剂吉非替尼在治疗非小细胞肺癌研究中也发现, 肿瘤组织EGFR突变预示着吉非替尼治疗有效, 无突变者敏感性显著降低^[39]。这些研究提示, 肿瘤药敏试验与患者的遗传背景相结合应用于临床肿瘤治疗, 对提高个体化治疗效果和降低毒副反应的发生具有重要意义。

3 问题与展望

综上所述, 肿瘤药敏试验在指导临床医生制订合适的化疗方案中具有重要的意义。更重要的是药敏试验可以帮助排除无效药的使用, 避免药物的副作用和不必要的花费。目前肿瘤药敏试验已在实验室研究中广泛应用, 但还未能能在临床上广泛推广, 主要原因是一直以单细胞悬液培养为主的药敏试验可靠性较差, 临床符合率低。肿瘤药敏仍需考虑: (1) 药敏试验尚无统一的标准规程(SOP), 各研究机构对药物浓度的采用、药物与细胞作用时间的选择及敏感标准的设立各不相同; (2) 体外药敏试验的结果与体内的结果存在不一致的情况。这可能是由于体外试验并没有考虑到药物在体内的药物代谢动力学和药物效应动力学的影响, 也忽视了体内神经-体液因素的作用^[40, 41]; (3) 体外药敏试验也无法知道药物对正常组织细胞的毒性; (4) 体外肿瘤药敏试验不能对经代谢后起作用的药物进行评价; (5) 肿瘤细胞存在异质性, 化疗初期与中晚期对药物敏感性可能有差异, 建议中晚期再进行药敏试验以调节化疗方案; (6) 如何靶向肿瘤干细胞样细胞及克服肿瘤的耐药性是肿瘤化疗领域急需解决的难题。

References

- [1] Michalski CW, Erkan M, Sauliunaite D, et al. *Ex vivo* chemosensitivity testing and gene expression profiling predict response towards adjuvant gemcitabine treatment in pancreatic cancer [J]. *Br J Cancer*, 2008, 99: 760-767.
- [2] Ji YB, Zhou JH, Zuo MX, et al. Effects of CPUY013, a novel Topo I inhibitor, on human gastric adenocarcinoma BGC823 cells *in vitro* and *in vivo* [J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 2008, 43: 811-818.

- [3] Ulukaya E, Ozdikicioglu F, Oral AY, et al. The MTT assay yields a relatively lower result of growth inhibition than the ATP assay depending on the chemotherapeutic drugs tested [J]. *Toxicol in vitro*, 2008, 22: 232-239.
- [4] Zhang SH, Chen J, Jiang M, et al. Lidamycin induces apoptosis of human gastric carcinoma BGC823 cells and inhibits xenograft growth in nude mice [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2008, 43: 601-604.
- [5] Hu GQ, Dong XL, Xie SQ, et al. Synthesis and antitumor activity of anthracene-9-carbaldehyde amino-s-triazole Schiff-bases with side-chain of S-acetic acid [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2008, 43: 50-53.
- [6] Cree IA. Predictive oncology-second conference of the International Society for Chemosensitivity Testing in Oncology [J]. *Anticancer Drugs*, 2004, 15: 301-302.
- [7] Kondo T, Kubota T, Tanimura H, et al. Cumulative results of chemosensitivity tests for antitumor agents in Japan. Japan Research Society for Appropriate Cancer Chemotherapy [J]. *Anticancer Res*, 2000, 20: 2389-2392.
- [8] Schrag D, Garewal HS, Burstein HJ, et al. American Society of Clinical Oncology Technology Assessment: chemotherapy sensitivity and resistance assays [J]. *J Clin Oncol*, 2004, 22: 3631-3638.
- [9] Samson DJ, Seidenfeld J, Ziegler K, et al. Chemotherapy sensitivity and resistance assays: a systematic review [J]. *J Clin Oncol*, 2004, 22: 3618-3630.
- [10] Nakamura R, Saikawa Y, Kubota T, et al. Role of the MTT chemosensitivity test in the prognosis of gastric cancer patients after postoperative adjuvant chemotherapy [J]. *Anticancer Res*, 2006, 26: 1433-1437.
- [11] Iwahashi M, Nakamori M, Nakamura M, et al. Individualized adjuvant chemotherapy guided by chemosensitivity test sequential to extended surgery for advanced gastric cancer [J]. *Anticancer Res*, 2005, 25: 3453-3459.
- [12] Kubota T, Egawa T, Otani Y, et al. Cancer chemotherapy chemosensitivity testing is useful in evaluating the appropriate adjuvant cancer chemotherapy for stages III/IV gastric cancers without peritoneal dissemination [J]. *Anticancer Res*, 2003, 23 (1B): 583-587.
- [13] Ugurel S, Schadendorf D, Pfohler C, et al. *In vitro* drug sensitivity predicts response and survival after individualized sensitivity-directed chemotherapy in metastatic melanoma: a multicenter phase II trial of the Dermatologic Cooperative Oncology Group [J]. *Clin Cancer Res*, 2006, 12: 5454-5463.
- [14] Fruehauf JP. *In vitro* assay-assisted treatment selection for women with breast or ovarian cancer [J]. *Endocr Relat Cancer*, 2002, 9: 171-182.
- [15] Hatok J, Babusikova E, Matakova T, et al. *In vitro* assays for the evaluation of drug resistance in tumor cells [J]. *Clin Exp Med*, 2009, 9: 1-7.
- [16] Fiebig HH, Schuchhardt C, Henss H, et al. Comparison of tumor response in nude mice and in the patients [J]. *Behring Inst Mitt*, 1984, 74: 343-352.
- [17] El-Khoury V, Gomez D, Liautaud-Roger F, et al. Effects of the histone deacetylase inhibitor trichostatin A on nuclear texture and c-jun gene expression in drug-sensitive and drug-resistant human H69 lung carcinoma cells [J]. *Cytometry*, 2004, 62A: 109-117.
- [18] Nagai N, Minamikawa K, Mukai K, et al. Predicting the chemosensitivity of ovarian and uterine cancers with the collagen gel droplet culture drug-sensitivity test [J]. *Anticancer Drugs*, 2005, 16: 525-531.
- [19] Kawamura M, Gika M, Abiko T, et al. Clinical evaluation of chemosensitivity testing for patients with unresectable non-small cell lung cancer (NSCLC) using collagen gel droplet embedded culture drug sensitivity test (CD-DST) [J]. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2007, 59: 507-513.
- [20] Takamura Y, Kobayashi H, Taguchi T, et al. Prediction of chemotherapeutic response by collagen gel droplet embedded culture-drug sensitivity test in human breast cancers [J]. *Int J Cancer*, 2002, 20: 450-455.
- [21] Maniwa Y, Yoshimura M, Takata M, et al. Effective chemotherapy based on a chemosensitivity test for malignant pleural mesothelioma [J]. *Ann Thorac Cardiovasc Surg*, 2008, 14: 319-321.
- [22] Higashiyama M, Oda K, Okami J, et al. *In vitro*-chemosensitivity test using the collagen gel droplet embedded culture drug test (CD-DST) for malignant pleural mesothelioma: possibility of clinical application [J]. *Ann Thorac Cardiovasc Surg*, 2008, 14: 355-362.
- [23] Yoshimasu T, Oura S, Hirai I, et al. Data acquisition for the histoculture drug response assay in lung cancer [J]. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 2007, 133: 303-308.
- [24] Fujita Y, Hiramatsu M, Kawai M, et al. Histoculture drug response assay predicts the postoperative prognosis of patients with esophageal cancer [J]. *Oncol Rep*, 2009, 21: 499-505.
- [25] Lee SY, Jeon DG, Cho WH, et al. Preliminary study of chemosensitivity tests in osteosarcoma using a histoculture drug response assay [J]. *Anticancer Res*, 2006, 26: 2929-2932.
- [26] Hasegawa Y, Goto M, Hanai N, et al. Evaluation of optimal drug concentration in histoculture drug response assay in association with clinical efficacy for head and neck cancer [J]. *Oral Oncol*, 2006, 43: 749-756.

- [27] Tanahashi M, Yamada T, Moriyama S, et al. The effect of the histoculture drug response assay (HDRA) based perioperative chemotherapy for non-small cell lung cancer [J]. *Kyobu Geka*, 2008, 61: 26–30.
- [28] Gallion H, Christopherson WA, Coleman RL, et al. Progression-free interval in ovarian cancer and predictive value of an *ex vivo* chemoresponse assay [J]. *Int J Gynecol Cancer*, 2006, 16: 194–201.
- [29] Yoshimasu T, Oura S, Hirai I, et al. Data acquisition for the histoculture drug response assay in lung cancer [J]. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 2007, 133: 303–308.
- [30] Yoshimasu T, Ohta F, Oura S, et al. Histoculture drug response assay for gefitinib in non-small-cell lung cancer [J]. *Gen Thorac Cardiovasc Surg*, 2009, 57: 138–143.
- [31] Pathak KA, Juvekar AS, Radhakrishnan DK, et al. *In vitro* chemosensitivity profile of oral squamous cell cancer and its correlation with clinical response to chemotherapy [J]. *Indian J Cancer*, 2007, 44: 142–146.
- [32] Yuan SQ, Zhou ZW, Liang YJ, et al. Correlation of chemosensitivity measured by histoculture drug response assay to expression of multidrug resistance genes and proteins in gastric cancer [J]. *Chin J Cancer (癌症)*, 2009, 28: 337–343.
- [33] Liang YJ, Zhou XX, Pan QC, et al. *In vitro* drug sensitivity of hepatoma to several chemotherapeutic agents [J]. *Tumor*, 2001, 21: 17–19.
- [34] Liang YJ, Feng GK, Pan QC, et al. Detection of the chemosensitivity of ovarian cancer to chemotherapeutic drugs used either alone or in combination *in vitro* [J]. *Chin J Cancer (癌症)*, 1999, 18: 17–19.
- [35] Yuan S, Wang Y, Jiang S, et al. Study on chemosensitivity assay *in vitro* in the peripheral blood lymphocyte and the tumor cells [J]. *J West China Univ Med Sci (华西医科大学学报)*, 2000, 31: 338–340.
- [36] Kaspers GJ, Pieters R, Van Zantwijk CH, et al. *In vitro* drug sensitivity of normal peripheral blood lymphocytes and childhood leukaemic cells from bone marrow and peripheral blood [J]. *Br J Cancer*, 1991, 64: 469–474.
- [37] McLeod HL, Tan B, Malyapa R, et al. Genotype-guided neoadjuvant therapy for rectal cancer [J]. *J Clin Oncol*, 2005, 23: S3024.
- [38] Chang H, Rha S, Jeung H, et al. Association of MDR-1 gene polymorphism 2677G/T (A) and 3435C/T with clinical outcomes of paclitaxel monotherapy in metastatic breast cancer patients [J]. *J Clin Oncol*, 2008, 26: S14654.
- [39] Chang H, Rha S, Jeung H, et al. EGFR mutations in lung cancer: correlation with clinical response to gefitinib therapy [J]. *Science*, 2004, 304: 1497–1500.
- [40] Hwu P, Bedikian AY, Grimm EA. Challenges of chemosensitivity testing [J]. *Clin Cancer Res*, 2006, 12: 5258–5259.
- [41] Maitland ML, DiRienzo A, Ratain MJ. Interpreting disparate responses to cancer therapy: the role of human population genetics [J]. *J Clin Oncol*, 2006, 24: 2151–2157.