



DOI:10.3969/j.issn.1672-7347.2013.12.004

<http://xbyx.xysm.net/xbwk/fileup/PDF/2013121223.pdf>

## 三磷酸腺苷-肿瘤体外药敏试验对宫颈癌 临床化学治疗的指导作用

张颖<sup>1</sup>, 赵倩<sup>1</sup>, 江亚南<sup>2</sup>, 苑中甫<sup>1</sup>, 杨立<sup>3</sup>

(郑州大学 1. 第一附属医院妇产科, 郑州 450052; 2. 基础医学院病理生理学教研室, 郑州 450001;  
3. 第三附属医院妇产科, 郑州 450052)

**[摘要]目的:** 研究三磷酸腺苷-肿瘤体外药敏试验(ATP-tumor chemosensitivity assay, ATP-TCA)对宫颈癌患者化学治疗(化疗)方案选择的指导性作用。**方法:** 选择2007年7月至2009年10月宫颈癌住院患者72例, 将其随机分为药敏组(35例)和对照组(37)例。采用 ATP-TCA法检测药敏组宫颈癌组织对6种联合化疗方案的敏感性。药敏组患者根据药敏结果选择化疗方案, 对照组根据临床经验制定化疗方案。随访3年, 比较药敏组与对照组1年复发率和3年生存率。**结果:** 35例药敏组中有32例成功进行了ATP-TCA 检测; 体外有效例数分别为紫杉醇+卡铂20例、紫杉醇+奥沙利铂18例、博来霉素+异环磷酰胺+顺铂17例、博来霉素+长春新碱+顺铂18例、氟尿嘧啶+顺铂17例、吉西他滨+顺铂21例。1年复发例数药敏组与对照组比较差异无统计学意义( $P>0.05$ ); 3年生存情况药敏组好于对照组( $P<0.05$ )。**结论:** ATP-TCA法可以为宫颈癌患者筛选出敏感、有效、个体化的化疗方案, 值得临床推广。

**[关键词]** 宫颈癌; 三磷酸腺苷-肿瘤体外药敏试验; 化学治疗方案

## ATP-tumor chemosensitivity assay directed chemotherapy in patients with cervical cancer

ZHANG Ying<sup>1</sup>, ZHAO Qian<sup>1</sup>, JIANG Yanan<sup>2</sup>, YUAN Zhongfu<sup>1</sup>, YANG Li<sup>3</sup>

(1. Department of Gynecology and Obstetrics, First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052; 2. Department of Pathophysiology, College of Basic Medical Sciences, Zhengzhou University, Zhengzhou 450001; 3. Department of Gynecology and Obstetrics, Third Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, China)

### ABSTRACT

**Objective:** To select suitable chemotherapy for cervical cancer patients by ATP-tumor chemosensitivity assay.

**Methods:** Seventy-two hospitalized patients with cervical cancer between July 2007 and October 2009 were enrolled. The patients were randomly divided into a trial group ( $n=35$ ) and a control group ( $n=37$ ). ATP-TCA was used to detect the sensitivity of 35 samples of cervical cancer in the

收稿日期(Date of reception): 2013-06-24

作者简介(Biography): 张颖, 硕士, 主治医师, 主要从事妇科肿瘤的研究。

通信作者(Corresponding author): 杨立, Email: zdsfyangli@163.com

基金项目(Foundation item): 河南省医学科技攻关计划(201303050)。This work was supported by Medical Scientific and Technological Brainstorm Project of Henan Province, P. R. China (201303050).

trial group to 6 combined chemotherapy regimens. The chemotherapy regimen in the trial group was confirmed by the results of susceptibility testing and that in the control group was confirmed by clinical experience. One-year recurrence rate and 3-year survival rate of two groups were compared after 3 year follow-up.

**Results:** ATP-TCA was measured in 32 of the 35 patients in the trial group. The sensitive patients for paclitaxel + carboplatin, paclitaxel + oxaliplatin, bleomycin + ifosfamide + cisplatin, bleomycin + vincristine + cisplatin, fluorouracil + cisplatin, and gemcitabine + cisplatin were 20, 18, 17, 18, 17, and 21, respectively. There was no significant difference in the 1-year recurrence between the two groups ( $P>0.05$ ), while the 3-year survivors in the trial group were more than those in the control group ( $P<0.05$ ).

**Conclusion:** ATP-TCA method is good for patients with cervical cancer because it is sensitive, effective, and individualized.

## KEY WORDS

cervical cancer; ATP-tumor chemosensitivity assay; chemotherapy regimen

宫颈癌是最常见的妇科恶性肿瘤, 化学治疗(化疗)是其手术治疗和盆腔放射治疗(放疗)的重要辅助治疗手段, 合理敏感的化疗方案可以增加恶性肿瘤患者术后生存率, 与患者的预后明显相关<sup>[1-2]</sup>。因此, 对宫颈癌患者进行个体化化疗、筛选敏感的化疗药成为宫颈癌治疗中的关注点之一。三磷酸腺苷-肿瘤化学敏感检测(ATP-tumor chemosensitivity assay, ATP-TCA)是临床应用最为广泛的体外药敏检测方法之一<sup>[3]</sup>, 它的开展可以为临床恶性肿瘤患者提供敏感化疗方案<sup>[4]</sup>。因此, 笔者应用ATP-TCA法检测宫颈癌患者的敏感化疗药物, 旨在为临床宫颈癌患者的个体化敏感化疗方案提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 一般临床资料

选择2007年7月至2009年10月在郑州大学第一附属医院和郑州大学第三附属医院诊断为宫颈癌的住院患者72例, 将其随机分为药敏组(35例)和对照组(37例)。进行ATP-TCA的所有标本为通过活检或手术取自药敏组患者的新鲜肿瘤组织, 取材前患者均未进行化疗, 且经病理确诊, 根据国际妇产科联盟(the International Federation of Gynecology and Obstetrics, FIGO)2009年临床分期标准分期。两组病例年龄、临床分期、组织类型以及病理分级比较, 差异无统计学意义( $P>0.05$ , 表1)。两组宫颈癌患者均根据临床具体情况制定治疗方案, 药敏组化疗方案取决于药敏试验, 对照组根据临床经验制定化疗方案。两组均随访3年。

表1 两组病例临床资料比较

Table 1 Comparison of clinical data between the 2 groups

组别	n	年龄/岁	分期				组织类型			病理分级		
			I	II	III	IV	鳞癌	腺癌	腺鳞癌	G <sub>1</sub>	G <sub>2</sub>	G <sub>3</sub>
药敏组	35	47.6 ± 2.9	5	20	8	2	30	5	0	7	23	5
对照组	37	49.1 ± 3.1	3	21	9	4	29	6	2	8	21	8

### 1.2 试剂与仪器

ATP生物荧光肿瘤药物敏感性检测试剂盒购自北京金紫晶生物医药技术有限公司, BHP9504-02型微弱光分析仪购自北京滨松光子技术股份有限公司。

### 1.3 化疗方案

化疗药物均为临床常用药物, 包括紫杉醇(北京协和药厂)、奥沙利铂(江苏恒瑞医药公司)、卡铂(齐鲁制药公司)、顺铂(齐鲁制药公司)、博来霉素(日本化药株式会社高崎工厂)、异环磷酰胺(江苏恒瑞医药公司)、长春新碱(深圳万乐药业有限公司)、

氟尿嘧啶(上海旭东海普药业有限公司)、吉西他滨(江苏豪森药业股份有限公司)。化疗方案采用以铂类为基础的临床常用方案,紫杉醇+卡铂、紫杉醇+奥沙利铂、博来霉素+异环磷酰胺+顺铂、博来霉素+长春新碱+顺铂、氟尿嘧啶+顺铂、吉西他滨+顺铂。用药浓度参考试剂盒说明书的血浆峰值浓度(peak plasma concentration, PPC)。

## 1.4 方法

### 1.4.1 原代细胞培养

将新鲜宫颈癌组织用生理盐水洗净后在含抗生素的培养基中浸泡10~20 min,剪成0.5~1.0 mm<sup>3</sup>碎块,置50 mL离心管,加入10 mL混合消化酶的培养基,放入37 ℃,5%CO<sub>2</sub>培养箱中消化2~3 h,通过160目的筛网过滤,制成单细胞悬液,用培养基洗涤1次,台盼蓝染色计数,按2×10<sup>4</sup>~4×10<sup>4</sup>个细胞/孔接种于96孔培养板中。

### 1.4.2 生物荧光肿瘤药物敏感性检测

每组药设5个稀释浓度,按200.0%,100.0%,50.0%,25.0%,12.5%PPC将化疗药加入培养孔中,每个浓度设2个平行孔,并设空白对照孔,将培养板置37 ℃、5%CO<sub>2</sub>培养箱中培养3~5 d;各孔加入ATP提取液50 μL,混匀后分别取50 μL混合液于检测板中,加入50 μL荧光酶-荧光素工作液,送入荧光检测仪中检测。

### 1.4.3 药敏检测结果判定

按照1998年肿瘤对化疗药物敏感性评价标准将药物对肿瘤的作用分为4个等级<sup>[1]</sup>:高度敏感(SS):IC<sub>50</sub><25.0% PPC及IC<sub>90</sub><100.0% PPC;中度敏感(IS):IC<sub>50</sub><25.0% PPC及IC<sub>90</sub>>100.0% PPC;轻度敏感(MS):IC<sub>50</sub>>25.0% PPC及IC<sub>90</sub><100.0% PPC;耐药(R):IC<sub>50</sub>>25.0% PPC及IC<sub>90</sub>>100.0% PPC。其中IC<sub>90</sub>为抑制90%肿瘤生长时的PPC;IC<sub>50</sub>为抑制50%肿瘤生长时的PPC。并认为SS和IS在体外有效,MS和R在体外无效。

## 1.5 统计学处理

采用SPSS19.0软件进行统计分析,计量资料采用t检验,结果用均数±标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示;计数资料采用 $\chi^2$ 检验,P<0.05差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 药敏结果

35例宫颈癌组织标本中3例因细菌污染放弃培养,余32例顺利完成肿瘤药敏检测。6种化疗方案体外有效情况见表2。

表2 6种化疗方案对32例宫颈癌组织的体外有效情况/例

Table 2 Effect in vitro of 6 chemotherapy regimens on 32 samples of cervical cancer

化疗方案	敏感分级			
	SS	IS	MS	R
紫杉醇+卡铂	9	11	5	7
紫杉醇+奥沙利铂	11	7	2	12
博来霉素+异环磷酰胺+顺铂	6	11	5	10
博来霉素+长春新碱+顺铂	5	13	9	5
氟尿嘧啶+顺铂	10	7	9	6
吉西他滨+顺铂	12	9	2	9

## 2.2 远期疗效

药敏组放弃培养3例,2例无需化疗,失访1例,1年内复发2例,3年内死亡1例;对照组中失访3例,1年内复发5例,3年内死亡9例。两组患者1年复发患者比较差异无统计学意义(P>0.05),药敏组的3年生存例数与对照组比较差异有统计学意义(P<0.05,表3)。

表3 两组间的远期疗效比较

Table 3 Comparison of long-term outcomes between the 2 groups

组别	n	1年复发患者	3年生存患者
药敏组	29	2	28
对照组	34	5	25
合计	63	7	53

与对照组比较,P<0.05。

## 3 讨论

宫颈癌在全球女性恶性肿瘤中的发病率仅次于乳腺癌,传统的治疗方法以手术和放疗为主,但随着近年新型化疗药物的不断问世、给药途径的不断改善,且逐渐认识到放疗并发症较多,严重影响患者的生活质量,化疗已成为治疗宫颈癌重要手段之一。而临床上通常可以看到同一种化疗药物或同一套化疗方案治疗不同期别、不同分型的肿瘤患者,疗效相差很大。这是由于肿瘤细胞的异质性决定了其对化疗药物敏感性的差异,因此,制定宫颈癌患者的化疗方案会直接影响到患者的化疗效果,也是实现肿瘤患者个体化治疗的关键。而ATP-TCA法的应用使临床上制定肿瘤患者个体化敏感治疗方案成为可能。

近十多年来体外肿瘤药物敏感或耐药试验越来越受到重视<sup>[5]</sup>,而ATP-TCA是其十余种检测方法中应用较广泛的一种,它是根据细胞内源性ATP的含量即时反映细胞的活性和活细胞数量,从而评价化

疗药物对肿瘤细胞的杀伤效果, 在妇科恶性肿瘤的研究中较多应用于卵巢癌。多个报道<sup>[6-9]</sup>分别通过对原发性和复发性卵巢上皮性癌的研究, 认为ATP-TCA技术的应用能够显著提高卵巢癌的化疗有效率及无进展生存时间, 并能有效预测其临床化疗敏感性。尤其对于铂类耐药型复发性卵巢癌, ATP-TCA更是其选择有效化疗方案的依据<sup>[9-10]</sup>。2011年美国国立综合癌症网络(National Comprehensive Cancer Network, NCCN)在卵巢癌治疗指南中明确指出上皮性卵巢癌的化疗方案可参考药物敏感和耐药试验结果<sup>[11]</sup>, 而目前ATP-TCA已经成为卵巢癌体外药物敏感试验的经典技术<sup>[12]</sup>,

但ATP-TCA在宫颈癌应用中的研究较少。考虑铂类是治疗宫颈癌最常用的化疗药物, 本研究选用在宫颈癌治疗中常用的几种与铂类联用的方案, 通过对35例宫颈癌患者进行ATP-TCA检测, 以期评判肿瘤组织对化疗药物的敏感性, 进而筛选有效的化疗方案。最终32例标本完成了药敏检测, 可评价率达91.4%(32/35), 其他3例标本因细菌污染中途放弃培养, 如通过严格标准化试验方法还有望进一步提高可评价率。药敏试验结果显示以铂类为基础的6种化疗方案对宫颈癌的体外有效例数均超过半数, 但无一种化疗方案对所有宫颈癌组织均有效, 也无一例宫颈癌组织对所有化疗方案均敏感。该结果再次验证了ATP-TCA法简便、可行, 可以用来检测宫颈癌组织对化学药物治疗方案的敏感性, 并与高国兰等<sup>[13]</sup>通过对宫颈癌标本进行ATP-TCA法检测而得出的结论(不同个体的宫颈癌组织对不同的药物敏感)一致。刘志茹等<sup>[14]</sup>通过ATP-TCA法对34例新鲜宫颈癌组织进行药敏检测中同样发现不同患者对不同的化疗方案敏感性不同, 且通过回归分析得出体外药物敏感性与临床分期及肿瘤分化程度无相关性的结论。之所以出现相同类型的肿瘤对相同的化疗方案表现出不同的敏感性, 这都归结于肿瘤组织的异质性, 正是因为肿瘤组织的异质性, 临床上对宫颈癌患者进行化疗时需制定个体化有效的且敏感的化疗方案。

本研究还进一步对比了药敏结果指导的临床治疗与经验性治疗的结局, 结果发现药敏组3年生存情况好于对照组, 证实通过ATP-TCA法为宫颈癌患者制定的敏感化疗方案在临床上有效和可行的, 药敏组1年复发情况与对照组比较差异无统计学意义, 考虑是标本量较少所致, 结论还需要扩大样本量进一步验证。

从本研究结果可以看出, 通过应用ATP-TCA法筛选宫颈癌敏感化疗方案, 可以避免传统化疗方案设计的盲目性, 为临床上进行肿瘤个体化治疗方案

提供理论支持, 有效延长患者生存期, 从而使临床上制定宫颈癌患者个体化敏感治疗方案成为可能。

## 参考文献

1. Kurbacher CM, Cree IA, Bruckner HW, et al. Use of an ex vivo ATP luminescence assay to direct chemotherapy for recurrent ovarian cancer[J]. *Anticancer Drugs*, 1998, 9(1): 51-57.
2. Konecny G, Crohns C, Pegram M, et al. Correlation of drug response with the ATP tumor- chemosensitivity assay in primary FIGO stage III ovarian cancer[J]. *Gynecol Oncol*, 2000, 77(2): 258-263.
3. 张伟. 生物荧光肿瘤体外药敏检测技术的临床应用[J]. *中华检验医学杂志*, 2005, 28(12): 1316-1319.  
ZHANG Wei. Clinical application of ATP-tumor chemosensitivity assay[J]. *Chinese Journal of Laboratory Medicine*, 2005, 28(12): 1316-1319.
4. Kubacher CM, Cree IA. Chemosensitivity testing using microplate adenosine triphosphate-based luminescence measurements[J]. *Methods Mol Med*, 2005, 110: 101-120.
5. Burstein HJ, Mangu PB, Somerfield MR, et al. American Society of Clinical Oncology clinical practice guideline update on the use of chemotherapy sensitivity and resistance assays[J]. *J Clin Oncol*, 2011, 29(24): 3328-3330.
6. Neubauer H, Stefanova M, Solomayer E, et al. Predicting resistance to platinum-containing chemotherapy with the ATP tumor chemosensitivity assay in primary ovarian cancer[J]. *Anticancer Res*, 2008, 28(2A): 949-955.
7. 赵丹, 吴令英, 李晓光, 等. 三磷酸腺苷-肿瘤体外药敏试验预测复发性卵巢上皮癌化疗敏感性的价值[J]. *中华肿瘤杂志*, 2010, 32(11): 855-858.  
ZHAO Dan, WU Lingying, LI Xiaoguang, et al. Application chemosensitivity assay epithelial of ATP-tumor in recurrent ovarian cancer [J]. *Chinese Journal of Oncology*, 2010, 32(11): 855-858.
8. 赵丹, 吴令英, 王小兵, 等. 三磷酸腺苷-肿瘤体外药敏试验在预测原发性卵巢上皮癌化疗敏感度中的应用价值[J]. *中华肿瘤杂志*, 2010, 32(5): 368-372.  
ZHAO Dan, WU Lingying, WANG Xiaobing, et al. Application of ATP-tumor chemosensitivity assay in primary epithelial ovarian cancer [J]. *Chinese Journal of Oncology*, 2010, 32(5): 368-372.
9. 高玉涛, 吴令英, 张伟, 等. 三磷酸腺苷-肿瘤体外药敏试验指导复发性卵巢上皮癌化疗的前瞻性研究[J]. *中华妇产科杂志*, 2013, 48(5): 358-363.  
GAO Yutao, WU Lingying, ZHANG Wei, et al. A prospective study of adenosine triphosphate-tumor chemosensitivity assay directed chemotherapy in patients with recurrent ovarian cancer [J]. *Chinese Journal of Obstetrics and Gynecology*, 2013, 48(5): 358-363.

10. Cree IA, Kurbacher CM, Lamont A, et al. A prospective randomized controlled trial of tumour chemosensitivity assay directed chemotherapy versus physician's choice in patients with recurrent platinum-resistant ovarian cancer[J]. *Anticancer Drugs*, 2007, 18(9): 1093-1101.
11. Morgan RJ, Alvarez RD, Armstrong DK, et al. NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology: epithelial ovarian cancer[J]. *J Natl Compr Canc Netw*, 2011, 9(1): 82-113.
12. Cree IA. Chemosensitivity and chemoresistance testing in ovarian cancer[J]. *Curr Opin Obstet Gynecol*, 2009, 21(1): 39-43.
13. 高国兰, 万红英, 邹学森, 等. 子宫颈癌组织三磷酸腺苷肿瘤体外药物敏感试验及其与耐药蛋白表达的关系[J]. *中华妇产科杂志*, 2007, 42(3): 201-205.  
GAO Guolan, WAN Hongying, ZOU Xuesen, et al. Relationship between the expression of P-glycoprotein, glutathione S-transferase- $\pi$  and thymidylate synthase proteins and adenosine triphosphate tumor chemosensitivity assay in cervical cancer[J]. *Chinese Journal of Obstetrics and Gynecology*, 2007, 42(3): 201-205.
14. 刘志茹, 孔为民. 宫颈鳞状细胞癌ATP-TCA法体外药敏试验分

析[J]. *中华肿瘤防治杂志*, 2012, 19(22): 1730-1733.

LIU Zhiru, KONG Weimin. Analysis of the ATP-TCA in cervical squamous cell carcinoma chemosensitivity testing[J]. *Chinese Journal of Cancer Prevention and Treatment*, 2012, 19(22): 1730-1733.

(本文编辑 陈丽文)

本文引用: 张颖, 赵倩, 江亚南, 苑中甫, 杨立. 三磷酸腺苷-肿瘤体外药敏试验对宫颈癌临床化学治疗的指导作用[J]. *中南大学学报:医学版*, 2013, 38(12): 1223-1227. DOI:10.3969/j.issn.1672-7347.2013.12.004

**Cite this article as:** ZHANG Ying, ZHAO Qian, JIANG Yanan, YUAN Zhongfu, YANG Li. ATP-tumor chemosensitivity assay directed chemotherapy in patients with cervical cancer[J]. *Journal of Central South University Medical Science*, 2013, 38(12): 1223-1227. DOI:10.3969/j.issn.1672-7347.2013.12.004

## 《临床与病理杂志》2014年征订启事

《临床与病理杂志》(原名《国际病理科学与临床杂志》)创刊于1981年,为教育部主管、中南大学主办的国家级医学学术期刊,为“中国科技核心期刊(中国科技论文统计源期刊)”,并被美国《化学文摘》(CA)等国内外多家重要数据库和检索系统收录,被评为“第2届中国高校特色科技期刊”“第3届中国高校优秀科技期刊”“第4届中国高校优秀科技期刊”,已成为临床医学与病理科学领域中颇具影响力的期刊。

本刊为双月刊,逢双月末出版,16开,国内外公开发行。定价15元/期,全年定价90元,国内统一刊号:CN 43-1521/R;国内邮发代号:42-35,国外邮发代号:BM6564;各地邮局(所)均可订阅,漏订者也可直接汇款至湖南省长沙市湘雅路110号湘雅医学院内75号信箱《临床与病理杂志》编辑部,邮政编码:410078,订阅者请在汇款单附言注明所订刊物的年度、期号和册数。

编辑部电话:0731-84805495, 84805496; 传真:0731-84804351

Email: gwyxxy@vip.163.com; gwyxxy@126.com

http://www.gjbl.net

《临床与病理杂志》编辑部