

·论著·

## MTT 法体外检测脑胶质瘤对化疗药物的敏感性 及预见性化疗的疗效分析

周 朋, 苏 君, 张学新, 张 锐, 金 华, 常 亮, 吕中华, 张 磊, 王洪滨  
(哈尔滨医科大学附属肿瘤医院神经外科, 黑龙江 哈尔滨 150081)

**【摘要】背景与目的:**个体化化疗是脑胶质瘤重要的辅助治疗方法之一,本研究应用四氮唑盐比色法(methyl thiazolyl tetrazolium, MTT)检测脑胶质瘤细胞体外对化疗药物的敏感性,为胶质瘤的个体化化疗提供参考,并根据药敏结果采用替尼泊苷(VM-26)与尼莫司汀(ACNU)分别联合顺铂(CDDP)进行胶质瘤的化疗,评价其疗效。**方法:**39例胶质瘤进行原代细胞培养,采用 MTT 法检测胶质瘤对常用八种化疗药物的敏感性,并根据试验结果将患者分为两组进行化疗(VM26-CDDP 组和 ACNU-CDDP 组),按 WHO 实体瘤疗效评价标准评价疗效。**结果:**39例患者中37例获得检测结果,体外培养成功率达94.9%。37例胶质瘤细胞体外对八种化疗药物的敏感性从高到低依次为:VM-26>ACNU>Taxol>TMZ>CDDP>BCNU>VCR>Fotemustine。胶质瘤的病理级别及初发、复发对药物敏感性无显著性影响。35例患者接受化疗,共进行119个周期的化疗,ACNU组58个周期,VM-26组61个周期。其中无完全缓解(complete response,CR)病例,VM-26组部分缓解(partial response,PR)1例(5.6%),稳定(stable disease,SD)14例(77.8%),进展(progressive disease,PD)3例(16.6%),客观有效率(CR+PR)为5.6%,疾病控制率(CR+PR+SD)为83.4%;ACNU组部分缓解1例(5.9%),稳定(SD)14例(82.3%),进展2例(11.1%),客观有效率为5.9%,疾病控制率为88.2%。VM-26组患者中位无进展生存期(PFS)Ⅱ级为10.60个月(95%CI:7.21-15.46),Ⅲ、Ⅳ级为3.2个月(95%CI:2.3-5.20),中位总生存(OS)Ⅱ级为13.33个月(95%CI:10.21-16.46),Ⅲ、Ⅳ级为7.29个月(95%CI:4.92-9.65);ACNU组中位无进展生存期(PFS)Ⅱ级为9.70个月(95%CI:7.23-14.77),Ⅲ、Ⅳ级为6.20个月(95%CI:2.24-5.06),中位总生存(OS)Ⅱ级为14.09个月(95%CI:10.88-16.12),Ⅲ、Ⅳ级为6.20个月(95%CI:5.94-8.49)。**结论:**MTT检测可以作为胶质瘤体外药实试验的一种方法,MTT体外药敏实验对排除无效药物、筛选敏感药物,提高胶质瘤的化疗效果,具有一定的参考价值。根据药敏结果选择VM-26和ACNU联合CDDP化疗可取得较好的总反应率和疾病控制率。

**关键词:**脑胶质瘤; MTT 比色法; 药物敏感性; 化疗

中图分类号:R739.41

文献标识码:A

文章编号:1726-8192(2009)04-0254-06

## The Application of in Vitro Sensitivity of Glioma to Chemotherapeutic Agents by MTT Assay in Chemotherapy for Glioma Patients

Peng Zhou, Jun Su, Xue-xin Zhang, Rui zhang, Hua Jin, Liang Chang, Zhong-hua Lu,  
Lei Zhong, Hong-bin Wang

Departement of Neurosurgery, The Tumor Hospital of Harbin Medical University, Harbin, 150081, P. R. China

**【ABSTRACT】BACKGROUND & OBJECTIVE:** Individualized chemotherapy is one of the important treatments for glioma patients. The present study was to examine in vitro chemo-sensitivity with MTT assay and evaluate the effectiveness of the regimen of cisplatin (CDDP) combined with teniposide or nimustine (ACNU). **METHODS:** The fresh glioma cells derived from 39 glioma patients were cultured in vitro. The sensitivity of cultured glioma cells to eight chemotherapeutic drugs was determined by utilizing MTT colorimetric assay. VM26-CDDP group and ACNU-CDDP group were divided according to the drug sensitivity. The clinical effectiveness was evaluated according to Response Evaluation Criteria in Solid Tumors (RECIST). **RESULT:** MTT assay was

收稿日期:2009-10-13

修回日期:2009-11-23

通讯作者: 苏 君

Correspondence to: Sun Jun

Tel: 86-451-8298352

E-mail: sujun6686@126.com

was

performed for 39 glioma specimens and succeeded in 37 cases. The success rate was 94.9%. In 37 cases, the sensitivity sequence of eight chemotherapeutic drugs from high to low was VM-26 > ACNU > Taxol > TMZ > CDDP > BCNU > VCR > Fotemustine. There was no significant difference of pathological grade and newly-diagnosed or relapse of the tumor on chemo-sensitivity of the patients. Thirty-five patients received a total of 119 cycles of chemotherapy (58 cycles in ACNU group, 61 cycles in VM-26 group). No complete response (CR) was achieved. The rate of partial response (PR), stable disease (SD) and progressive disease (PD) were found in 1 patient (5.6%), 14 cases (77.8%), 3 cases (16.6%), in VM26 group, respectively. Meanwhile, Objective Efficiency (CR+PR) and disease control rate (CR+PR+SD) were 5.6% and 83.4%, respectively. In ACNU group, 1 patients (5.9%) showed PD, 14 patients (82.3%) had SD and 2 patients (11.1%) were PD. The CR+PR and CR+PR+SD were 5.9% and 88.2%, respectively. Median progression-free survival (PFS) in VM26 group was 10.60 months (95%CI: 7.21-15.46) for grade II and 3.2 months (95%CI: 2.3-5.20) for grade III/IV, respectively. Median overall survival (OS) was 13.33 months (95%CI: 10.21-16.46) for grade II and 7.29 months (95%CI: 4.92-9.65) for grade III/IV, respectively. In ACNU group, PFS for grade II and grade III/IV was 9.70 months (95%CI: 7.23-14.77) and 3.5 months (95%CI: 2.24-5.06), respectively. And the OS was 14.09 months (95%CI: 10.88-16.12) for grade II and 6.20 months for grade III/IV (95%CI: 5.94-8.4), respectively. **CONCLUSIONS:** MTT assay is one of the methods for determining sensitivity of chemotherapeutic agents in vitro. It may provide useful information to avoid ineffective chemotherapy and identify efficient agent for glioma chemotherapy. The combined regimen of CDDP with ACNU or VM-26 may improve overall response rate, disease control rate according to drug sensitivity.

**KEY WORDS:** Glioma; MTT colorimetric assay; Drug sensitivity; chemotherapy

胶质瘤是颅内最常见的恶性肿瘤,占颅内原发肿瘤的50%左右。目前,它的治疗是以手术、放疗、化疗相结合的综合治疗。化疗确实可以延长胶质瘤患者的生存时间,但由于脑胶质瘤解剖部位的特殊性及其本身对化疗药物耐药,导致胶质瘤化疗效果不理想,单凭经验或常规化疗药物有效率低,因此,在化疗之前进行体外药敏实验排除无效药物、筛选敏感药物,对每个患者制定个体化的化疗方案能提高临床化疗效果,避免盲目用药给患者带来的毒副作用。本研究对人脑胶质瘤患者的肿瘤标本常规采用MTT体外药敏实验法,测定八种常用化疗药物的体外敏感性,并且分析了药物敏感性与临床资料之间的相关性。根据体外药敏试验的结果,我们选择敏感的化疗药物为脑胶质瘤患者制定合理的联合化疗方案,并观察其临床疗效反应。现将结果报告如下。

## 1 材料与方法

### 1.1 临床资料

2008年3月~2009年5月,哈尔滨医科大学附属肿瘤医院神经外科对39例胶质瘤手术标本进行体外药敏实验,其中37例获得结果。37例患者中男性19例,女性18例,年龄17~80岁,平均(48.51±15.44)岁,其中初发27例,复发10例,患者病理分类(按照WHO2007中枢神经系统肿瘤分类标准)为:Ⅱ级17例,Ⅲ级7例,Ⅳ级13例。根据药敏结果,35例接受化疗,化疗前患者均有明确可评

价病灶,且均进入疗效评价,其中7例以前接受过放疗,2例接受过化疗(为单药TMZ化疗),余患者未接受过任何治疗。

### 1.2 抗肿瘤药物

ACNU、BCNU、VCR、VM-26、TMZ、Fotemustine、CDDP、Taxol。八种药物配比成10×PPC的储备液,分别倍比稀释成七种浓度,按200μl/管分装后,-20℃保存。按Limburg<sup>[1]</sup>推荐的公式计算药物的血浆峰浓度(peak plasma concentration, PPC)(μg/ml)=50×D/5000×2×103,其中D为临床化疗剂量(mg/kg/d)上述八种化疗药的PPC分别为3.86μg/ml、3.5μg/ml、2.7μg/ml、5.0μg/ml、8.5μg/ml、8.4μg/ml、2.5μg/ml、4.2μg/ml。

### 1.3 主要试剂

标本除菌洗涤液为无血清RPMI-1640(含青、链霉素),组织培养为含10%小牛血清的RPMI-1640培养液,25%的胰蛋白酶(Sigma公司),MTT溶液(Sigma公司),二甲基亚砜(DMSO,Sigma公司)。

### 1.4 主要仪器

96孔无菌培养板(Corning/Costar),酶标仪(Bio-Tek ELX800,美国),5%CO<sub>2</sub>贺利氏气体培养箱,倒置生物显微镜(Nikon TE2000-u,日本)。

### 1.5 胶质瘤细胞悬液的制备

手术过程中切除的新鲜肿瘤标本放入生理盐水中清洗,去掉血液,显微镜下剔除坏死和电凝过的组织,放入冻存管中立即送检实验室,4小时内

在超净工作台进行实验。用含青、链霉素的无血清 RPMI-1640 培养液清洗标本 2~3 遍,取出肿瘤用无菌眼科剪剪碎成 1mm<sup>3</sup> 左右(对纤维组织较多、质硬的肿块可加入适量 0.25% 胰蛋白酶消化),用吸管反复轻轻吹打,经 200 目不锈钢网研磨过滤,收集单个细胞悬液入离心管,1000r/min 离心 5min,弃上清,加含 10% 血清 RPMI-1640 培养液混匀再离心,如此三遍。加含 20% 血清 RPMI-1640 培养液进行活细胞计数,将其配制成 1×10<sup>5</sup> 个/ml 细胞悬液按每孔 190μl 接种于 96 孔培养板中,置于 37℃、5%CO<sub>2</sub> 培养箱孵育 24h,定期观察肿瘤细胞贴壁生长情况。

### 1.6 MTT 比色法分析

从培养箱中取出 96 孔培养板,分别加八种抗肿瘤药物,其浓度参照血浆峰浓度(PPC),每孔加入 10μl,每种药物设七个浓度(分别为 10×PPC、5×PPC、2.5×PPC、1.25×PPC、0.625×PPC、0.3125×PPC 和 0.15625×PPC),每个浓度设三复孔,同时设空白对照(含肿瘤细胞,用培养液代替化疗药物),37℃ 培养 72 小时后,加入 0.5% MTT 溶液 20μl/孔,37℃ 培养 4h;弃上清,每孔加入 100μl DMSO 溶液,振荡 5min 后,用 Bio-Tek ELX800 酶标仪测量 490nm 处的吸光值(A 值),计算每个药物的 IC<sub>50</sub>(半抑制浓度)和血药峰浓度下的抑制率(IR<sub>ppc</sub>%=1-实验组平均 A 值/对照组平均 A 值×100%),药物敏感结果评价参考 Singh 等<sup>[2]</sup>的药物试验评价标准:IR>30% 为敏感,IR<30% 为耐药。为更明确的指导临床用药,又将敏感分为高度敏感(IR>50%)和中度敏感(30%<IR<50%),其中敏感率=(高度敏感例数+中度敏感例数)/总样本例数×100%。

### 1.7 化疗方案

根据体外药敏试验结果将患者分为两组,VM26-CDDP 组和 ACNU-CDDP 组,化疗方案为 VM26 80-100mg/(m<sup>2</sup>·d),d1-3;ACNU 2-3mg/kg, d1,CDDP:80-100mg/m<sup>2</sup> 分 3~4 天静点,4~6 周为一周期。

### 1.8 疗效评价标准及随访

所有病例化疗前均采用 MRI 检查,进行疗效评价,常规每两个周期检查一次。按 WHO 疗效评价标准:完全缓解(complete response,CR),部分缓解(partial response,PR),微效(minor response,MR),稳定(stable disease,SD)和进展(progressive disease,PD)。其中全部病灶消失且维持 4 周以上判定为

CR;病灶两最大垂直径乘积缩小≥50%且无新病灶出现,维持 4 周以上判定为 PR;病灶两最大垂直径乘积缩小≥25%但≤50%且无新病灶出现维持 4 周判定为 MR;病灶两最大垂直径乘积缩小≤25%或增大≤25%且无新病灶出现维持 4 周判定为 SD;病灶两最大垂直径乘积增大 25%以上,或出现新病灶判定为 PD。随访至 2009 年 9 月,生存时间以患者开始接受化疗计算。无进展生存期(progression free survival,PFS)是从本方案开始化疗至 MRI 检查提示复发或临床症状提示复发的时间,或本方案开始化疗到末次随访时间,其间并无进展。总生存时间(overall survival,OS)是本方案开始至患者死亡的时间。

### 1.9 统计学分析

统计处理使用 SPSS13.0 for windows 统计软件。脑胶质标本对各种药物敏感性的比较采用 χ<sup>2</sup> 检验,胶质瘤病理级别和初发、复发与八种药物敏感性的关系采用 Fisher 确切概率法 χ<sup>2</sup> 检验,生存分析用 Kaplan-Meier 法。P<0.05 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 胶质瘤体外药敏试验结果

以胶质瘤细胞的增殖抑制率(IR)为评价标准,结果显示,37 例胶质瘤细胞对八种化疗药物的敏感性从高到低依次为:VM-26 (45.9%)>ACNU (43.2%)>Taxol (40.5%)>TMZ (32.4%)>CDDP (29.7%)>BCNU (24.3%)>VCR (19.3%)>Fotemustine(13.5%),并经 χ<sup>2</sup> 检验各组用药敏感性间差异具有统计学意义(χ<sup>2</sup>=18.009,P=0.012)见表 1。

表 1 35 例胶质瘤患者体外药敏试验结果

化疗药物	例数	敏感	耐药	敏感率(%)
ACNU	37	16	21	43.2
BCNU	37	9	28	24.3
VCR	37	6	31	19.3
VM-26	37	17	20	45.9
TMZ	37	12	25	32.4
Fotemustine	37	5	32	13.5
DDP	37	11	26	29.7
Taxol	37	15	22	40.5

\* χ<sup>2</sup>=18.009; P=0.012; P<0.05.

### 2.2 药物敏感性与病理级别的关系

依照 WHO 胶质瘤分类标准,37 例分为低级别

组(Ⅱ级)和高级别组(Ⅲ级和Ⅳ级),分别与八种化疗药物的敏感性进行比较,统计结果显示胶质瘤的病理级别与药物的敏感性间均无相关性( $P > 0.05$ )。见表 2。

表 2 病理级别与八种化疗药物敏感性的关系

药物	级别	敏感	耐药	Fisher 确切概率法
ACNU	Ⅱ	8	9	$P=0.460$
	Ⅲ,Ⅳ	8	12	
BCNU	Ⅱ	4	13	$P=0.612$
	Ⅲ,Ⅳ	5	15	
VCR	Ⅱ	3	14	$P=0.587$
	Ⅲ,Ⅳ	3	17	
VM-26	Ⅱ	7	10	$P=0.419$
	Ⅲ,Ⅳ	10	10	
TMZ	Ⅱ	3	13	$P=0.115$
	Ⅲ,Ⅳ	9	12	
Fotemustine	Ⅱ	2	15	$P=0.580$
	Ⅲ,Ⅳ	3	17	
DDP	Ⅱ	3	15	$P=0.091$
	Ⅲ,Ⅳ	8	11	
Taxol	Ⅱ	9	8	$P=0.140$
	Ⅲ,Ⅳ	6	14	

### 2.3 药物敏感性与肿瘤初发或复发的关系

将 37 例分为初发和复发两个组,分别与八种化疗药物的敏感性进行比较,统计结果显示,肿瘤的初发或复发与药物的敏感性之间均无相关性( $P > 0.05$ )。见表 3。

### 2.4 化疗疗效

35 例共进行 119 个周期的化疗,其中 ACNU 组 58 个周期,平均 3.5 个周期,VM-26 组 61 个周期,平均 3.4 周期。35 例中无 CR 病例,VM-26 组 PR 1 例(5.6%),SD 14 例(77.8%),PD 3 例(16.6%),客观有效率(CR+PR)为 5.6%,疾病控制率(CR+PR+SD)为 83.4%;ACNU 组部分缓解 1 例(5.9%),SD 14 例(82.3%),进展 2 例(11.1%),客观有效率为 5.9%,疾病控制率为 88.2%。

从本方案开始化疗时计算,VM-26 组中位 PFS:Ⅱ级为 10.60 个月(95%CI:7.21-15.46),Ⅲ、Ⅳ级为 3.2 个月(95%CI:2.3-5.20),中位 OS:Ⅱ级为 13.33 个月(95%CI:10.21-16.46),Ⅲ、Ⅳ级为 7.29 个月(95%CI:4.92-9.65);ACNU 组中位 PFS:Ⅱ级为 9.70 个月(95%CI:7.23-14.77),Ⅲ、Ⅳ级为 3.5 个月(95%CI:2.24-5.06),中位 OS:Ⅱ级为 14.09 个月

表 3 初发、复发与八种化疗药物敏感性的关系

药物	级别	敏感	耐药	Fisher 确切概率法
ACNU	初发组	10	17	$P=0.190$
	复发组	6	4	
BCNU	初发组	7	20	$P=0.537$
	复发组	2	8	
VCR	初发组	4	23	$P=0.525$
	复发组	2	8	
VM-26	初发组	13	14	$P=0.474$
	复发组	4	6	
TMZ	初发组	8	19	$P=0.412$
	复发组	4	6	
Fotemustine	初发组	4	23	$P=0.588$
	复发组	1	9	
DDP	初发组	9	18	$P=0.361$
	复发组	2	8	
Taxol	初发组	10	17	$P=0.365$
	复发组	5	5	

(95%CI:10.88-16.12),Ⅲ、Ⅳ级为 6.20 个月(95%CI:5.94-8.49)。

## 3 讨论

在胶质瘤的综合治疗中化疗是重要的一环,但研究表明,传统的亚硝胺类化疗药物对恶性胶质瘤的有效率仅有 20%,而半数以上的胶质瘤对其耐药,其机制异常复杂,而胶质瘤的异质性也是很重要的原因。恶性胶质瘤的异质性不仅仅表现在病理学特点和生物学行为上,同样也表现在对化疗药物的敏感性上,因此,对不同肿瘤类型、不同肿瘤个体选择敏感药物进行化疗势在必行。体外药物敏感性试验简便快捷,可应用于不同肿瘤和化疗药物,是实现个体化疗的有效途径之一。

MTT 比色法是 Mosmann<sup>[3]</sup>在 1983 年首先报道的,现已被美国 NCI 选为体外抗癌药物筛选的常规方法,其优点是简便、快捷、经济且与临床相关性好,从众多体外药敏试验中脱颖而出。MTT 比色法适用于来自新鲜肿瘤组织标本的细胞,一些研究者报道体外 MTT 与患者体内的反应有高度相关性。我们的研究采用 MTT 法检测了临床上常用的八种化疗药物对胶质瘤细胞的抑制率,研究结果显示不同个体对同一种药物的敏感性以及同一个体对不同药物的敏感性差异较大,且没有一种药物能抑制所有胶质瘤细胞的生长。其中以 VM-26 (45.9%)、

ACNU (42.9%) 的敏感率较高, 优于其他六种化疗药物, 具有显著性差异。VM-26 敏感性的研究结果与国内学者张伟等<sup>[4]</sup>和于朝春等<sup>[5]</sup>应用 MTT 法(单细胞法) 进行的胶质瘤体外药敏检测结果具有相似性, 这也与目前临床上选择以 VM-26 为主的联合用药治疗胶质瘤有良好疗效相一致。此外, ACNU 的敏感性也较高, 可以为术后以 ACNU 为主的化疗提供理论依据。

近年来, 作为治疗胶质瘤一线用药的新型广谱抗肿瘤烷化剂 TMZ 的敏感率仅为 32.4%, 这一结果比 Bower 等<sup>[6]</sup>报道的有效率(11%)和张伟等<sup>[3]</sup>报道的结果(15.9%)稍高, 但也不甚理想, 其原因及临床应用效果还有待进一步研究。而传统的化疗药物 BCNU 在 35 例中只有 8 例敏感, 其敏感率仅为 24.3%。敏感率较低, 国外学者 Westphal 等<sup>[7]</sup>研究表明 BCNU 在低级别胶质瘤化疗中的有效率为 20%, 这表明本实验体外的敏感率与体内有效率相接近。目前, 我们已知影响药物敏感性的因素主要是肿瘤细胞增殖状态、细胞增殖指数及细胞周期循环时间等细胞动力学因素。本研究还对可能影响 MTT 敏感性实验结果的两个临床因素病理级别以及肿瘤的初发、复发也进行了分析, 结果显示两者对药物敏感性的结果均无明显影响。国外学者 Stewart 等<sup>[8]</sup>收集全世界 12 个胶质瘤化疗的随机对照研究(3004 例患者), 并对化疗疗效进行 Meta 分析得出结论: 胶质瘤化疗效果与年龄、性别、病理类型、机能状态及手术切除范围均无相关性。因此, 临床上在为胶质瘤患者制定个体化化疗方案时, 不能将肿瘤病理级别和初发、复发这两个因素作为参考指标, 而体外药敏实验能客观和直接地反映胶质瘤组织对化疗药物敏感性, 具有很好的参考价值。

ACNU 属于烷化剂中 CEUN 类重要的药物, 能使肿瘤细胞 DNA 发生烷基化, 阻碍 DNA 复制, 抑制细胞生长, 是细胞周期特异性药物。VM-26 属于鬼臼毒素类的半合成衍生物, 作用于 DNA 的拓扑异构酶, 从而导致 DNA 双链或单链破坏, 使细胞周期停滞于晚 S 期或 G<sub>2</sub> 期, 是细胞周期特异性药物。顺铂为金属铂的络合物, 作用类似烷化剂, 属周期非特异性药, 作用于 DNA 链间及链内交链, 形成 CDDP-DNA 复合物, 干扰 DNA 复制。它是治疗多种实体瘤的一线药物。临床单独采用 CDDP 治疗胶质瘤的有效率仅为 10%<sup>[9]</sup>, 因此, 有必要对它与其他药物联合应用的疗效进行研究。研究表明, CDDP

可以抑制 MGMT 的表达, 提高 ACNU 的抗肿瘤效果。Tanaka 等<sup>[10]</sup>对经过顺铂或卡铂处理的 U373MG 及 A172 胶质瘤细胞检测 MGMT 的表达, 发现 MGMT 表达较空白对照组明显下降, 细胞对 ACNU 的敏感性增强。我们根据药敏结果采用 VM26 与 ACNU 分别联合 CDDP 进行脑胶质瘤的化疗取得了良好的疗效。Gwak 等<sup>[9]</sup>对 37 例成胶质细胞瘤患者进行 ACNU 联合 CDDP 连续 72 h 静脉化疗, 效果显著, 19 例有效, 骨髓抑制反应多是可逆的。国内学者张俊平等<sup>[11]</sup>联合 VM-26 和 CDDP 治疗恶性胶质瘤, 研究表明其客观有效率(CR+PR)为 20%, 疾病控制率(CR+PR+SD)为 80%, 认为有与其它常用化疗方案相似的客观有效率和更高的疾病稳定率, 值得进一步扩大病例深入研究。我们研究发现 VM-26 联合 CDDP 组的客观有效率(CR+PR)为 5.6%, 疾病控制率(CR+PR+SD)为 83.4%; ACNU 联合 CDDP 组的客观有效率为 5.9%, 疾病控制率为 88.2%。两种联合方案治疗恶性胶质瘤取得了较高的疾病控制率, 但后续仍需要大样本、前瞻性临床试验进一步检验化疗方案的疗效。

近十几年, MTT 法广泛应用于临床各种恶性肿瘤的化疗药物敏感性检测, Sargent 等<sup>[12]</sup>对此法的研究应用认为 MTT 法结果与化疗敏感和耐药有显著一致性, 能为临床个体化化疗方案的选择提供相对准确的依据。Nikkhah 等<sup>[13]</sup>研究表明, 一般化疗药物治疗胶质瘤的体外敏感、体内有效的符合率为 50%~70%, 体外耐药、体内无效的符合率为 85%~95%。出现此偏差的原因是多方面的, 首先, 体外药敏检测不能完全模拟人体复杂的内环境; 其次, 非肿瘤细胞如淋巴细胞、纤维细胞及正常星形细胞的干扰也影响结果的准确性; 此外, 体外药敏实验方法本身及药敏试验敏感判别标准存在一定的局限性和主观性。但总的来说, MTT 具有实验方法简便、实验所需时间短以及可以大规模用于临床检测等优点, 有望成为肿瘤体外药敏实验的常规检测方法。

体外药敏实验一直是肿瘤学科中一个十分活跃的课题, 它在指导临床用药以及个体化疗方面有着不可低估的作用。MTT 比色法能较好的反映各种化疗药物对胶质瘤细胞的敏感性, 对胶质瘤患者临床个体化化疗效果有预见价值, 可以帮助临床医生选择有效的化疗药物, 设计合理的治疗方案, 避免无效药物所致的不良反应, 提高治疗效果。

## [参 考 文 献]

- [1] Limburg H. Individual chemotherapy of ovarian cancer by means of tissue and culture method [M]. In: Dendy PP, ED: Human tumors in short term culture. Techniques and clinical application. 1st ed. London: Academic press, 1972. 29-38.
- [2] Sing B, Li R, Xu L, et al. Prediction of survival in patients with head and neck cancer using the histoculture drug response assay [J]. Head Neck, 2002, 24(5): 437-442.
- [3] Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays [J]. J Immunol Methods, 1983, 65(1): 55-63.
- [4] 张 伟, 江 涛, 袁 芳, 等. 脑胶质瘤组织培养化疗药物敏感性的研究[J]. 中国微侵袭神经外科杂志, 2007, 12(4): 163-166.
- [5] 于朝春, 周范民, 王宇倩, 等. 脑胶质瘤的化疗敏感性研究[J]. 中华神经医学杂志, 2005, 7(4): 686-690.
- [6] Bower M, Newlands ES, Bleehen NM, et al. Multicentre CRC phase II trial of temozolomide in recurrent or progressive high-grade glioma [J]. Cancer Chemother Pharmacol, 1997, 40(6): 484-488.
- [7] Westphal M, Hilt DC, Bortey E, et al. A phase 3 trial of local chemotherapy with biodegradable carmustine (BCNU) wafers in patients with primary malignant glioma [J]. Neurooncol, 2003, 5(2): 79-88.
- [8] Stewart LA. Chemotherapy in adult high-grade glioma: a systematic review and meta-analysis of individual patient data from 12 randomised trials [J]. Lancet, 2002, 359(9311): 1011-1018.
- [9] Gwak H S, Youn SM, Kwon A H, et al. ACNU-cisplatin continuous infusion chemotherapy as salvage therapy for recurrent glioblastomas: phase II study [J]. J Neurooncol, 2005, 75 (2): 173-180.
- [10] Tanaka S, Kobayashi I, Utsuki S, et al. Down-regulation of O6 -methylguanine-DNA methyltransferase gene expression in gliomas by platinum compounds [J]. Oncol Rep, 2005, 14 (5) : 1275-1280.
- [11] 张俊平, 陈建文, 牟永告, 等. VM-26 和 DDP 联合化疗恶性胶质瘤: 20 例分析 [J]. 中国神经肿瘤杂志, 2005, 3(1): 17-20.
- [12] Sargent JM. The use of the MTT assay to study drug resistance in fresh tumour samples [J]. Recent Results Cancer Res, 2003, 161: 13-25.
- [13] Nikkhah G, Tonn JC, Hoffmann O, et al. The MTT assay for chemosensitivity testing of human tumors of the central nervous system. Part II : Evaluation of patient-and drug-specific variables [J]. J Neurooncol, 1992, 13(1): 13-24.

## 国外文摘

## Frequent amplification of a chr19q13.41 microRNA polycistron in aggressive primitive neuroectodermal brain tumors

*Cancer Cell. 2009 Dec 8;16(6):533-46.*

Li M, Lee KF, Lu Y, Clarke I, Shih D, Eberhart C, Collins VP, Van Meter T, Picard D, Zhou L, Boutros PC, Modena P, Liang ML, Scherer SW, Bouffet E, Rutka JT, Pomeroy SL, Lau CC, Taylor MD, Gajjar A, Dirks PB, Hawkins CE, Huang A.

*Division of Hematology-Oncology, Hospital for Sick Children, Toronto, ON M5G 0A3, Canada.*

We discovered a high-level amplicon involving the chr19q13.41 microRNA (miRNA) cluster (C19MC) in 11/45 (approximately 25%) primary CNS-PNET, which results in striking overexpression of miR-517c and 520g. Constitutive expression of miR-517c or 520g promotes in vitro and in vivo oncogenicity, modulates cell survival, and robustly enhances growth of untransformed human neural stem cells (hNSCs) in part by upregulating WNT pathway signaling and restricting differentiation of hNSCs. Remarkably, the C19MC amplicon, which is very rare in other brain tumors (1/263), identifies an aggressive subgroup of CNS-PNET with distinct gene-expression profiles, characteristic histology, and dismal survival. Our data implicate miR-517c and 520g as oncogenes and promising biological markers for CNS-PNET and provide important insights into oncogenic properties of the C19MC locus.