doi:10.12289/j.issn.1008-0392.20219

·临床研究·

基于类器官模型的宫颈癌铂类化疗药物敏感性的免疫组化指标分析与探索

许 玉[1],程忠平[2]

(1.上海交通大学医学院附属第九人民医院妇产科,上海 200011;
2.同济大学附属第十人民医院妇产科,上海 200072)

【摘要】目的 研究免疫组化指标 CEA、CK5/6、CK7、Ki-67、p16、p53、p63 表达与宫颈癌对铂类等化疗药物敏感性之间的关系。**方法** 选自同济大学附属第十人民医院收治的宫颈癌患者术中肿瘤组织;进行肿瘤化疗药物敏感性检测,运用液体覆盖技术 3D 细胞培养联合 ATP-TCA,评价药物敏感性;检测宫颈癌病理标本免疫组化指标 CEA、CK5/6、CK7、Ki-67、p16、p53、p63 表达水平;对免疫组化指标表达与宫颈癌对化疗药物的敏感性进行 Spearman 等级相关分析。**结果** 24 例宫颈癌患者的 3D 肿瘤细胞对紫杉醇+顺铂、顺铂的敏感率最高(65%、60%),对吉西他滨的敏感率较高(38%),对紫杉醇+卡铂、卡铂、奈达铂的敏感率较低(6%、20%、6%),对紫杉醇、多西他赛的敏感率为 0%。免疫组化指标 Ki-67 表达水平与宫颈癌 3D 细胞对紫杉醇+顺铂的敏感性呈正相关($P<0.05$),p63 表达水平与宫颈癌 3D 细胞对紫杉醇+卡铂的敏感性呈负相关($P<0.05$),CEA 表达水平与宫颈癌 3D 细胞对吉西他滨敏感性呈负相关($P<0.05$),其余指标与化疗药物敏感性无明显相关性。**结论** 基于 3D 细胞类器官模型,免疫组化指标 Ki-67、p63、CEA 表达水平可初步预测宫颈癌患者对紫杉醇+顺铂、紫杉醇+卡铂和吉西他滨化疗的敏感性。

【关键词】宫颈癌;化疗药物敏感性;3D 细胞培养;Ki-67;p63;癌胚抗原
【中图分类号】R737.33 **【文献标志码】**A **【文章编号】**1008-0392(2021)01-0068-06

Analysis of chemosensitivity of cervical cancer to platinum drugs by immunohistochemical indices based on organoid model

XU Yu[1], *CHENG Zhong-ping*[2]

(1. Dept. of Obstetrics and Gynecology, Shanghai Ninth People's Hospital, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200011, China; 2. Dept. of Obstetrics and Gynecology, Tenth People's Hospital, Tongji University School of Medicine, Shanghai 200072, China)

【Abstract】Objective To analyze the chemosensitivity of cervical cancer to platinum by immunohistochemical indices based on the organoid model. **Methods** Tissue samples were collected from 24 patients with cervical cancer undergoing surgical treatment in Shanghai Tenth People's Hospital of Tongji University from March 2018 to January 2020. The chemosensitivity of tumor cells was detected, using liquid overlay technique 3D cell culture combined with ATP-TCA. The expression levels of CEA, CK5/6, CK7, Ki-67, p16, p53 and p63 in cervical cancer were detected with immunohistochemistry. Spearman rank correlation analysis was performed to analyze the correlation of the expression of immunohistochemical indices with the sensitivity of cervical cancer to chemotherapy drugs. **Results** The sensitivity rates of 3D tumor cells of 24 cervical cancer patients to paclitaxel+cisplatin, cisplatin, gemcitabine, paclitaxel + carboplatin, carboplatin, nedaplatin, paclitaxel and docetaxelwas were 65%, 60%, 38%, 6%, 20%, 6%, 0% and 0%, respectively. The expression level of Ki-67 was positively correlated with the chemosensitivity of cervical cancer to paclitaxel+cisplatin

收稿日期:2020-05-12
作者简介:许 玉(1991—),女,硕士.E-mail:xuyu927@126.com
通信作者:程忠平.E-mail:mdcheng18@263.net

（P<0.05）；the expression level of p63 was negatively correlated with the chemosensitivity of cervical cancer to paclitaxel+carboplatin（P<0.05）；the expression level of CEA was negatively correlated with the chemosensitivity of cervical cancer to gemcitabine（P<0.05）；the other indices were not significantly correlated with the chemosensitivity. **Conclusion**　Based on 3D cell organoid model，the chemosensitivity of cervical cancer patients to paclitaxel + cisplatin，paclitaxel + carboplatin and gemcitabine can be predicted by cancer tissue expression of Ki-67，p63 and CEA，respectively.

【**Key words**】cervical cancer；chemosensitivity；3D cell culture；Ki-67；p63；carcinoembryonic antigen

宫颈癌是女性中第 4 位常见癌症和癌症死亡原因。化疗是宫颈癌治疗重要的组成部分。基于顺铂的方案一直是宫颈癌化疗首选，但是部分患者对铂类耐药。因此，对宫颈癌患者进行化疗药物敏感性检测，对于个体化治疗具有重要的指导意义。其中，三磷酸腺苷-生物荧光肿瘤体外药物敏感性检测技术（ATP-TCA）具有灵敏度高、精确度高、重复性好等优势[1]。此外，采用新型 3D 细胞培养类器官模型，能够接近或重现肿瘤真实的病理生理特征[2]，较准确地评估肿瘤对化疗药物的敏感性。但是宫颈癌药物敏感性检测尚未普及，需要有效的化疗药物敏感性预测手段进行补充。国内外研究表明，免疫组化指标癌胚抗原（carcinoembryonic antigen，CEA）、细胞角蛋白 5/6（cytokeratin 5/6，CK5/6）、细胞角蛋白 7（cytokeratin 7，CK7）、细胞增殖相关抗原 Ki-67、肿瘤蛋白 16（tumer protein 16，p16）、肿瘤蛋白 53（tumer protein 53，p53）、肿瘤蛋白 63（tumer protein 63，p63），与肿瘤对铂类药物的敏感性之间存在一定的相关性[3-9]。因此，本研究基于类器官模型，旨在通过以上免疫组化指标，对宫颈癌铂类化疗药物敏感性进行分析与探索。

1　资料与方法

1.1　一般资料

研究对象为 2018 年 3 月—2020 年 1 月同济大学附属第十人民医院妇产科住院的宫颈癌患者共 24 例，术前病理诊断明确，肉眼病灶直径≥1.5 cm，征得患者和家属同意行肿瘤化疗药物敏感性检测。研究经同济大学附属第十人民医院伦理委员会批准（SHSY-IEC-4.1/20-128/01）。无菌操作下自术中刚离体的肿瘤中切取标本，4 ℃冷藏转运至实验室，其余标本送病理科行免疫组织化学检测。患者年龄 31～81 岁，平均（57.9±12.0）岁；按 2018 国际妇产科联盟（International Federation of Gynecology and Obstetrics，FIGO）宫颈癌分期：Ⅰ期 7 例、Ⅱ期 12 例、Ⅲ期 3 例、Ⅳ期 2 例；病理诊断为鳞癌 21 例，腺癌 3 例，其中低分化 9 例，低-中分化 8 例，中分化 5 例，中-高分化 1 例；原发性癌 22 例，复发性癌 2 例；术前有放疗史 1 例，术前有顺铂化疗史 5 例。

化疗药物顺铂、卡铂、奈达铂、吉西他滨、紫杉醇、多西他赛化疗药物均购自美国 Selleck 公司。75%乙醇为国产，Hank's 平衡盐溶液（Hank's balanced salt solution，HBSS）购自美国 Cellgro 公司。Ⅳ型胶原酶、1640 培养基、10%胎牛血清、三抗（青霉素、链霉素、抗真菌抗生素）、双抗（青霉素、链霉素）为美国赛默飞世尔公司 GIBCO 品牌。氯化钙溶液、二甲基亚砜（dimethyl sulfoxide，DMSO）购自美国 Sigma 公司。淋巴细胞分离液购自加拿大 Cedarlane 公司，无血清培养基购自瑞士 LONZA 公司。CellTiter-Glo 荧光细胞活性检测试剂购自美国 Promega 公司。

1.2　宫颈癌 3D 细胞化疗药物敏感性检测方法

（1）制备细胞悬液：将肿瘤组织用 75%乙醇快速浸泡，用含三抗的 HBSS 冲洗。将组织切成 1～3 mm^3 小块，加入Ⅳ型胶原酶混合溶液，37 ℃消化 1～2 h，每 20 min 吹打混匀 1 次。当组织块出现絮状且细胞数目较多时，用含有双抗的完全 1640 培养液终止消化。通过 70 μm 细胞滤膜收集细胞悬液，离心后加入无血清培养基重悬。

（2）药物处理及 3D 细胞培养：取出-20 ℃保存的 400 倍最高浓度化疗药物，自然解冻并混匀。使用无血清培养基稀释药物至 10 倍浓度，再依次对半稀释，制备 200%、100%、50%、25%、12.5%、6.25%标准浓度的药物。100%标准浓度为化疗药物的血浆峰值浓度（peak plasma concentration，PPC）。根据相关文献[10-11]各药物的 PPC 为：顺铂 6.3 μg/mL、卡铂 25 μg/mL、奈达铂 5.3 μg/mL、紫杉醇 13.8 μg/mL、多西他赛 10 μg/mL、吉西他滨 25 μg/mL。96 孔低吸附板每孔分别加入 15 μL 不同浓度药物，从上至下浓度依次递减，不同种类药物孔横向并列排列。左侧设置一列对照孔（M1），每孔加入 15 μL 无血清培养基，右侧设置另一列对照

孔(M0),分别加入 15 μL 浓度递减的 DMSO。每孔加入 135 μL 细胞悬液,细胞密度约为 10^4 个/孔,其中对照孔 M1 只加入 135 μL 无血清培养基。37 ℃ 5%CO_2 细胞培养箱中培养 6 d。

(3) ATP-TCA 检测:每孔加入 50 μL CellTiter-Glo 试剂,振荡 5 min,室温孵育 30 min。每孔取 80 μL 溶液转入不透明 96 孔板,放入 GloMax 发光检测仪检测荧光发光值。

(4) 评价宫颈癌 3D 细胞对化疗药物的敏感性:计算化疗药物每个浓度对宫颈癌 3D 多细胞肿瘤球的抑制率(inhibition rate, IR)。

$$IR(\%) = \left(1 - \frac{X - M1}{M0 - M1}\right) \times 100\%$$

(X 为药物孔发光值,$M1$ 为无细胞孔发光值,$M0$ 为 DMSO 孔发光值平均值)

以药物浓度为自变量、抑制率为因变量绘制药物抑制曲线,采用 Origin 8.5 软件进行非线性拟合,函数模型选择 Logistic。Origin 根据药物抑制曲线计算出 IC50 和 IC90。

化疗药物敏感性评价标准[12]:IC90≤100%测试药物浓度(test drug concentration, TDC)和 IC50≤25%TDC,强敏感;IC90>100% TDC 和 IC50≤25% TDC,中度敏感;IC90≤100%TDC 和 IC50>25%TDC,弱敏感;IC90>100%TDC 和 IC50>25%TDC,耐药;敏感组包括强敏感和中度敏感,不敏感组包括弱敏感和耐药。(100%TDC 即药物 PPC)

1.3　免疫组织化学检测

宫颈癌标本送病理科行免疫组织化学检测,检测 CEA、CK5/6、CK7、Ki-67、p16、p53、p63 及其他分子标志物。对免疫组化指标表达水平进行分级:对于 CEA、CK5/6、CK7、p16、p53、p63,阳性、强阳性为高表达。部分阳性、少量阳性、弱阳性和阴性为低表达;Ki-67≥60%为高表达,Ki-67<60%为低表达。

1.4　统计学处理

应用 SPSS.21 统计软件进行 Spearman 等级相关分析。r>0 表示变量之间呈正相关,r<0 表示呈负相关。|r|为 0.0~0.2,极弱相关或无相关;|r|为 0.2~0.4,弱相关;|r|为 0.4~0.6,中等程度相关;|r|为 0.6~0.8,强相关;|r|为 0.8~1.0,极强相关。P<0.05 表示在 α=0.05 的检验水准下相关系数 r 具有统计学意义。

2　结　　果

2.1　宫颈癌 3D 细胞化疗药物敏感性检测结果

宫颈癌细胞培养 3~6 d,取孔内容物于生物倒置显微镜下观察,可见多个 3D 多细胞肿瘤球。图 1 为 22 号患者体外培养的宫颈癌 3D 细胞形态。

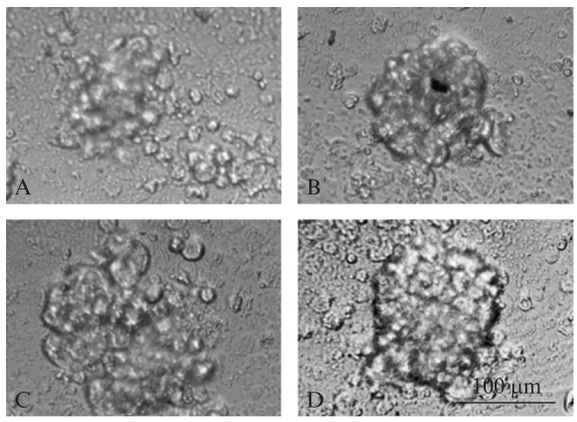

图 1　22 号患者体外培养的宫颈癌 3D 细胞形态(×100)
Fig.1　Morphology of cervical cancer 3D cell cultured in vitro from patient 22(×100)

培养第 3 d;A:100%标准浓度紫杉醇+顺铂处理;B:100%标准浓度紫杉醇+卡铂处理;C:100%标准浓度吉西他滨处理;D:100%标准浓度 MDSO 对照组

各种化疗药物对宫颈癌 3D 细胞的抑制曲线基本符合药物作用规律,当药物浓度增加时,抑制率以剂量依赖性方式增加。部分患者的宫颈癌 3D 细胞抑制曲线见图 2。

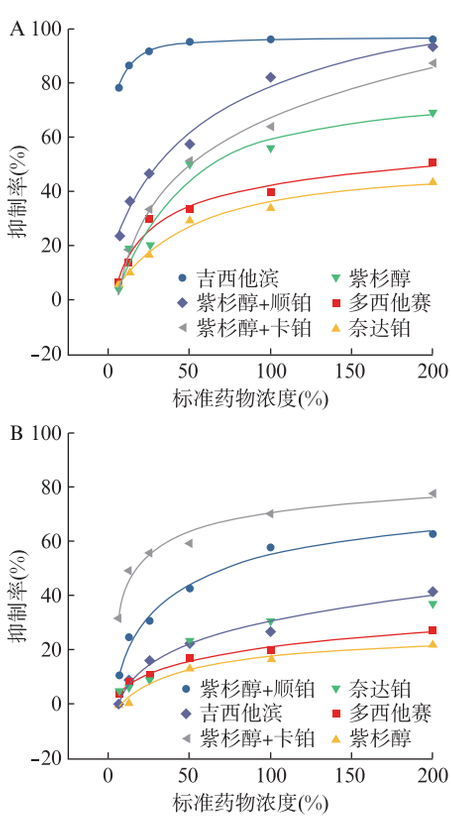

图 2　化疗药物对宫颈癌患者 3D 细胞的抑制曲线
Fig.2　Inhibition curves of chemotherapy drugs on 3D cells of cervical cancer patients

A:16 号患者;B:24 号患者

宫颈癌 3D 细胞对化疗药物的敏感性程度。药物敏感性结果见表 1。

表 1　宫颈癌 3D 细胞对化疗药物的敏感性
Tab.1　Sensitivity of cervical cancer 3D cells to chemotherapy drugs

化疗药物	例数	敏感组		不敏感组		敏感比例
		强敏感	中度敏感	弱敏感	耐药	
顺铂	5	0	3	0	2	60%
卡铂	5	0	1	0	4	20%
紫杉醇+顺铂	17	0	11	0	6	65%
紫杉醇+卡铂	17	0	1	0	16	6%
奈达铂	17	0	1	0	16	6%
紫杉醇	21	0	0	0	21	0
多西他赛	17	0	0	0	17	0
吉西他滨	21	2	6	1	12	38%

2.2　免疫组化结果

宫颈癌病理标本免疫组化指标 CEA、CK5/6、CK7、Ki-67、p16、p53、p63 表达见表 2。Ki-67、p63、CEA 高表达和低表达宫颈癌标本染色照片见图 3。

表 2　宫颈癌标本免疫组化指标的表达
Tab.2　Expression of immunohistochemical indices in cervical cancer specimens

免疫组化指标	检测例数	高表达		低表达	
		例数	比例	例数	比例
CEA	18	9	50%	9	50%
CK5/6	15	13	87%	2	13%
CK7	21	10	48%	11	52%
Ki-67	24	15	63%	9	37%
p16	23	20	87%	3	13%
p53	22	4	18%	18	82%
p63	24	21	88%	3	12%

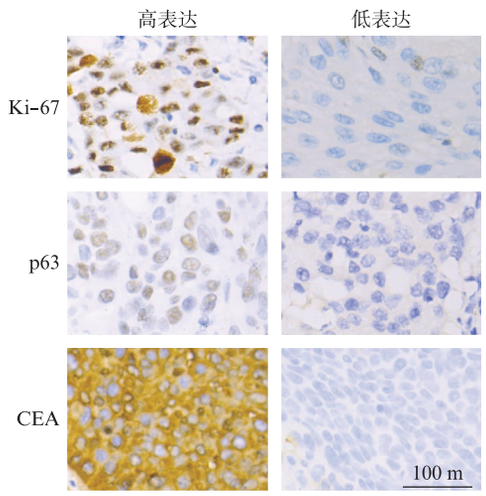

图 3　Ki-67、p63、CEA 高表达和低表达宫颈癌标本的免疫组化染色照片(×100)
Fig.3　Stained photographs of cervical cancer specimens with high and low expression of Ki-67, p63, CEA(×100)

2.3　免疫组化指标与化疗药物敏感性的相关性分析

将宫颈癌病理标本的免疫组化指标 CEA、CK5/6、CK7、Ki-67、p16、p53、p63 表达水平，与宫颈癌 3D 细胞对化疗药物的敏感性程度分别进行双向 Spearman 等级相关分析，结果见表 3。Ki-67 表达水平与宫颈癌 3D 细胞对紫杉醇+顺铂的敏感性呈正相关($r=0.485$，$P<0.05$)，相关程度中等。p63 表达水平与宫颈癌 3D 细胞对紫杉醇+卡铂的敏感性呈负相关($r=-0.540$，$P<0.05$)，相关程度中等。CEA 表达水平与宫颈癌 3D 细胞对吉西他滨的敏感性呈负相关($r=-0.541$，$P<0.05$)，相关程度中等。Ki-67、p63 表达与顺铂或卡铂单药的敏感性未得到相关性结果，可能的原因是样本数量过小(5 例)。本研究中，CK5/6、CK7、p16、p53 的表达与宫颈癌 3D 细胞对紫杉醇+顺铂、紫杉醇+卡铂、奈达铂、吉西他滨的敏感性均无相关性。

表 3　宫颈癌免疫组化指标与化疗药物敏感性的相关性分析结果
Tab.3　Correlation analysis between immunohistochemistry indices and chemosensitivity of cervical cancer

化疗药物	参数	CEA	CK5/6	CK7	Ki-67	p16	p53	p63
顺铂	*r*	/	/	0.167	0.167	/	−0.577	/
	P	/	/	0.789	0.789	/	0.423	/
卡铂	*r*	/	/	−0.408	0.408	/	−0.333	/
	P	/	/	0.495	0.495	/	0.667	/
紫杉醇+顺铂	*r*	0.094	−0.258	−0.145	0.485	−0.174	−0.289	−0.119
	P	0.738	0.418	0.605	0.049	0.519	0.277	0.648
紫杉醇+卡铂	*r*	0.250	0.100	/	0.200	0.067	−0.124	−0.540
	P	0.369	0.770	/	0.458	0.806	0.647	0.025
奈达铂	*r*	−0.258	0.091	/	−0.299	0.067	−0.124	0.116
	P	0.334	0.779	/	0.244	0.806	0.647	0.658

续表

化疗药物	参数	CEA	CK5/6	CK7	Ki-67	p16	p53	p63
紫杉醇	*r*	/	/	/	/	/	/	/
	P	/	/	/	/	/	/	/
多西他赛	*r*	/	/	/	/	/	/	/
	P	/	/	/	/	/	/	/
吉西他滨	*r*	−0.541	0.354	−0.284	−0.192	0.312	0.229	0.162
	P	0.037	0.215	0.239	0.404	0.181	0.345	0.494

在置信度(双侧)为 0.05 时,相关性有统计学意义

3 讨　论

研究发现,采用 ATP-TCA 对多种肿瘤进行体外化疗药物敏感性检测,其结果与临床疗效具有良好的相关性[13-15]。采用类器官模型可进一步提高检测结果的预测度。3D 多细胞肿瘤球是一种简单的类器官,其核心因缺氧而坏死、外围层较高的增殖率、内部细胞外基质的沉积、基因表达和表型,都与体内肿瘤中观察的现象非常相似[16]。本试验运用液体覆盖技术培养 3D 多细胞肿瘤球,联合 ATP-TCA,药物敏感性结果接近于宫颈癌患者体内肿瘤对化疗药物的反应。

本试验中,宫颈癌 3D 细胞对化疗药物表现为强敏感比例极少,中度敏感比例不高,不敏感比例较大,可推测宫颈癌 3D 细胞具有抵抗药物毒性的机制。试验检测宫颈癌 3D 细胞对紫杉醇+顺铂的敏感率为 65%,与 Lorusso 等[17]荟萃分析结果相符(基于顺铂的方案对晚期和复发性宫颈癌的缓解率为 29.1%~67%)。试验检测宫颈癌 3D 细胞对吉西他滨的敏感率为 38%,高于对紫杉醇+卡铂的敏感率(6%),显示出吉西他滨对铂类耐药宫颈癌的治疗潜力。有待更大规模试验对以上结果进行验证。

临床上很多宫颈癌患者未进行肿瘤药物敏感性检测,本研究旨在探索免疫组化指标能否预测宫颈癌对铂类化疗药物的敏感性。Ki-67 是一种反映细胞增殖的核 DNA 结合蛋白,研究发现 Ki-67 高表达的晚期宫颈癌患者对顺铂化疗反应更好、生存率更高[18]。p63 是 p53 抑癌基因家族成员,Zhou 等[9]发现 p63 的表达产物可提高宫颈鳞癌细胞对顺铂化疗的敏感性。癌胚抗原 CEA 是一种广谱肿瘤标志物,Abbas 等[3]发现高水平 CEA 与胃癌患者对顺铂联合抗血管生成化疗效果欠佳相关。

相关性分析显示,基于 3D 细胞类器官模型,免疫组化指标 Ki-67 表达水平与宫颈癌对紫杉醇+顺铂的敏感性呈正相关,p63 表达水平与宫颈癌对紫杉醇+卡铂的敏感性呈负相关,CEA 表达水平与宫颈癌对吉西他滨的敏感性呈负相关。因此,可通过 Ki-67、p63、CEA 表达水平初步预测宫颈癌患者对紫杉醇+顺铂、紫杉醇+卡铂和吉西他滨化疗的敏感性。Ki-67 高表达(≥60%)预测宫颈癌患者可能对紫杉醇+顺铂化疗敏感性高,Ki-67 低表达(<60%)预测患者可能对紫杉醇+顺铂化疗敏感性低。p63 高表达(阳性或强阳性)预测宫颈癌患者可能对紫杉醇+卡铂化疗敏感性低,而 p63 低表达(阴性或少量表达)预测患者可能对紫杉醇+卡铂化疗敏感性高。CEA 高表达预测宫颈癌患者对吉西他滨化疗敏感。当然,还需要扩大样本例数并进行临床前瞻性研究,以评估这种预测方法的准确性。

此外,本研究结果为宫颈癌化疗药物机制的研究提供了一些证据和线索。Ki-67 高表达宫颈癌对紫杉醇+顺铂的敏感性较高,反映 Ki-67 可能参与紫杉醇+顺铂对宫颈癌细胞的抗癌机制。p63 高表达宫颈癌对紫杉醇+卡铂的敏感性较低,反映 p63 或相关分子可能诱导宫颈癌细胞对紫杉醇+卡铂耐药。CEA 可能通过某种途径调节吉西他滨对宫颈癌的药理作用。Ki-67、p63 和 CEA 等肿瘤相关蛋白涉及复杂的调控途径,受到微小核糖核酸(microribonucleic acid, miRNA)等非编码 RNA 调节[19],在宫颈癌化疗中参与的信号通路有待进一步试验探索。

【参考文献】

[1] XIA F, MA S, BIAN Y, et al. A retrospective study of the correlation of in vitro chemosensitivity using ATP-TCA with patient clinical outcomes in acute myeloid leukemia[J]. Cancer Chemother Pharmacol, 2020,85(3): 509-515.

[2] SANT S, JOHNSTON P A. The production of 3D tumor spheroids for cancer drug discovery[J]. Drug Discov Today Technol, 2017,23(1): 27-36.

[3] ABBAS M, AHMED A, KHAN G J, et al. Clinical evaluation of carcinoembryonic and carbohydrate antigens as cancer biomarkers to monitor palliative chemotherapy in advanced stage gastric cancer[J]. Curr Probl Cancer, 2019,43(1): 5 - 17.

[4] CORR B R, FINLAY-SCHULTZ J, ROSEN R B, et al. Cytokeratin 5-positive cells represent a therapy resistant subpopulation in epithelial ovarian cancer[J]. Int J Gynecol Cancer, 2015,25(9): 1565 - 1573.

[5] HE Q Z, LUO X Z, WANG K, et al. Isolation and characterization of cancer stem cells from high-grade serous ovarian carcinomas[J]. Cell Physiol Biochem, 2014,33(1): 173 - 184.

[6] ZHOU Y, LIU H, WANG J, et al. ΔNp63α exerts antitumor functions in cervical squamous cell carcinoma [J]. Oncogene, 2020,39(4): 905 - 921.

[7] KIM H K, HA S Y, LEE J, et al. The impact of pathologic differentiation (well/poorly) and the degree of Ki-67 index in patients with metastatic WHO grade 3 GEP-NECs[J]. Oncotarget, 2017,8(43): 73974 - 73980.

[8] WU J S, ZHAO R Y, LIN J, et al. Integrin β4 reduces DNA damage-induced p53 activation in colorectal cancer[J]. Oncol Rep, 2018,40(4): 2183 - 2192.

[9] ZHOU Y, LIU H, WANG J, et al. ΔNp63α exerts antitumor fuctions in cervical squamous cell carinoma[J]. Oncogene, 2020,39(4): 905 - 921.

[10] QIU F, ZHAO X. Study on the sensitivity of primary tumor cells of patients with cervical cancer to chemotherapeutic combinations[J]. J Buon, 2018,23(1): 117 - 123.

[11] SASAKI Y, TAMURA T, EGUCHI K, et al. Pharmacokinetics of (glycolato-0, 0′)-diammine platinum (Ⅱ), a new platinum derivative, in comparison with cisplatin and carboplatin[J]. Cancer Chemother Pharmacol, 1989,23(4): 243 - 246.

[12] KURBACHER C M, CREE I A, BRUCKNER H W, 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.

[13] ZHANG J, LI H. Heterogeneity of tumor chemosensitivity in ovarian epithelial cancer revealed using the adenosine triphosphate-tumor chemosensitivity assay[J]. Oncol Lett, 2015,9(5): 2374 - 2380.

[14] CHEN Z Y, ZHANG S C, MA S, et al. Evaluation of thein vitro chemosensitivity and correlation with clinical outcomes in lung cancer using the ATP-TCA[J]. Anti-Cancer Agents Med Chem, 2018,18(1): 139 - 145.

[15] XIA F, MA S, BIAN Y, et al. A retrospective study of the correlation ofin vitro chemosensitivity using ATP-TCA with patient clinical outcomes in acute myeloid leukemia [J]. Cancer Chemother Pharmacol, 2020,85(3): 509 - 515.

[16] COSTA E C, MOREIRA A F, DE MELO-DIOGO D, et al. 3D tumor spheroids: an overview on the tools and techniques used for their analysis[J]. Biotechnol Adv, 2016,34(8): 1427 - 1441.

[17] LORUSSO D, PETRELLI F, COINU A, et al. A systematic review comparing cisplatin and carboplatin plus paclitaxel-based chemotherapy for recurrent or metastatic cervical cancer[J]. Gynecol Oncol, 2014,133(1): 117 - 123.

[18] KRTINIC D, ZIVADINOVIC R, JOVIC Z, et al. Significance of the Ki-67 proliferation index in the assessment of the therapeutic response to cisplatin-based chemotherapy in patients with advanced cervical cancer [J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2018,22(16): 5149 - 5155.

[19] 邵晓雯,秦锦龙,宋力雯,等.微小RNA-7-5p 调控三叶因子 3 对宫颈癌细胞增殖和迁移的影响[J].同济大学学报(医学版),2019,40(3): 292 - 297,304.