·论著·

洛铂对结直肠癌类器官的腹腔热灌注药物敏感性检测

刘铎[1] 王辉[2] 邓伟豪[3] 兰坚强[4] 宋志文[4] 朱宇[4] 井建玲[4] 蔡建[1]

[1]深圳市第二人民医院(深圳大学第一附属医院)肛肠外科,深圳 518025;[2]中山大学附属第六医院结直肠外科,广州 510655;[3]中山大学附属第六医院病理科,广州 510655;[4]广东省类器官工程技术研究中心,创芯国际生物科技(广州)有限公司,广州 510650

通信作者:蔡建,Email:caijian_dr@email.szu.edu.cn;王辉,Email:wang89@mail.sysu.edu.cn

【摘要】 目的 利用结直肠癌患者来源的肿瘤类器官作为临床前模型,对比洛铂与奥沙利铂体外热灌注的药物敏感性,以辅助临床制定腹腔热灌注化疗方案。**方法** 收集2021年7月至2022年12月期间中山大学附属第六医院经病理确诊为结直肠癌的患者手术后切下的部分肿瘤组织及获取的相关临床资料,对肿瘤组织进行类器官培养及传代,对活性良好的类器官进行体外热灌注实验。首先使用10例类器官分别进行6种浓度梯度(1 000、250、62.5、15.6、3.9和0.98 μmol/L)的奥沙利铂和洛铂体外热灌注实验,奥沙利铂于42℃环境下与类器官接触30 min,洛铂于42℃环境下与类器官接触60 min,根据绘制的剂量反应曲线,评估两种药物体外热灌注剂量反应能力。进一步使用30例类器官进行奥沙利铂和洛铂临床剂量的测试,奥沙利铂浓度为579 μmol/L,热灌注温度为42℃,时间为30 min;洛铂浓度为240 μmol/L,热灌注温度为42℃,时间为60 min。评估奥沙利铂和洛铂两种药物的体外热灌注敏感性。**结果** 成功培养了32例结直肠癌患者的肿瘤类器官。奥沙利铂消除50%肿瘤细胞所需的浓度(IC_{50})中位数为577.45 μmol/L(*IQR*:1 846.09 μmol/L);洛铂的IC_{50}中位数为85.04 μmol/L(*IQR*:305.01 μmol/L),两者比较差异无统计学意义(Z=1.784,P=0.084);10个类器官中有7个结果显示洛铂体外热灌注IC_{50}大于奥沙利铂。30例类器官在奥沙利铂和洛铂临床剂量下的测试结果显示:奥沙利铂的平均抑制率为39.6%(95%CI:32.1%~47.0%),洛铂的平均抑制率为89.7%(95%CI:87.0%~92.3%),两者比较差异有统计学意义(t=−15.282,P<0.001)。**结论** 洛铂体外热灌注的抑制率优于奥沙利铂,有希望代替奥沙利铂成为更好的腹腔热灌注化疗药物。

【关键词】 结直肠肿瘤; 腹膜转移; 腹腔热灌注化疗; 洛铂; 类器官

基金项目:中山大学附属第六医院"1010"计划[1010CG(2022)-08]

Sensitivity of colorectal cancer organoids to hyperthermic intraperitoneal chemotherapy with lobaplatin

Liu Duo[1], Wang Hui[2], Deng Weihao[3], Lan Jianqiang[4], Song Zhiwen[4], Zhu Yu[4], Jing Jianling[4], Cai Jian[1]

[1]Department of Anorectal Surgery, the Second People's Hospital of Shenzhen (the First Affiliated Hospital of Shenzhen University), Shenzhen 518025, China; [2]Department of Colorectal Surgery, the Sixth Affiliated Hospital, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510655, China; [3]Department of Pathology, the Sixth Affiliated Hospital, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510655, China; [4]Guangdong Research Center of Organoid Engineering and Technology, Accurate International Biotechnology Co., Ltd., Guangzhou 510650, China

Corresponding authors: Cai Jian, Email:caijian_dr@email.szu.edu.cn; Wang Hui, Email:wang89@ mail.sysu.edu.cn

DOI:10.3760/cma.j.cn441530-20230613-00201

收稿日期 2023-06-13 **本文编辑** 卜建红

引用本文:刘铎, 王辉, 邓伟豪, 等. 洛铂对结直肠癌类器官的腹腔热灌注药物敏感性检测[J]. 中华胃肠外科杂志, 2024, 27(5): 486-494. DOI: 10.3760/cma.j.cn441530-20230613-00201.

【**Abstract**】 **Objective** To investigate the sensitivity of tumor organoids derived from samples of colorectal cancer to lobaplatin and oxaliplatin hyperthermic perfusion *in vitro* and to assist clinical development of hyperthermic intraperitoneal chemotherapy. **Method** Tumor samples and relevant clinical data were collected from patients with pathologically confirmed colorectal cancer in the Sixth Affiliated Hospital of Sun Yat-sen University from July 2021 to December 2022. Organoids were cultured and tumor tissue were passaged. *In vitro* hyperthermic perfusion experiments were performed on organoids with good viability. Firstly, 10 organoids were treated with oxaliplatin and lobaplatin at the following six concentrations: 1 000, 250, 62.5, 15.6, 3.9, and 0.98 μmol/L. The organoids were exposed to oxaliplatin at 42℃ for 30 minutes and to lobaplatin at 42℃ for 60 minutes. Dose-response curves of responses to in vitro hyperthermic perfusion with these two drugs were constructed and evaluated. Clinical doses of oxaliplatin and lobaplatin were further tested on 30 organoids. This testing revealed oxaliplatin was effective at 579 μmol/L at a hyperthermic perfusion temperature of 42℃ for 30 min and lobaplatin was effective at 240 μmol/L at a hyperthermic perfusion temperature of 42℃ for 60 minutes. **Result** Thirty-two tumor organoids were cultured from samples of colorectal cancer. The median concentration required for oxaliplatin to eliminate 50% of tumor cells (IC50) was 577.45 μmol/L (IQR: 1846.09 μmol/L). The median IC50 for lobaplatin was 85.04 μmol/L (IQR: 305.01 μmol/L).The difference between the two groups was not statistically significant (Z=1.784, P=0.084). In seven of 10 organoids, lobaplatin showed a greater IC50 after in vitro hyperthermic perfusion than did oxaliplatin. Testing of 30 organoids with clinical doses of oxaliplatin and lobaplatin revealed that oxaliplatin achieved an average inhibition rate of 39.6% (95%CI: 32.1%－47.0%), whereas the average rate of inhibition for lobaplatin was 89.7% (95%CI: 87.0%－92.3%): this difference is statistically significant (t=－15.282, P<0.001). **Conclusion** The rate of inhibition achieved by hyperthermic perfusion of lobaplatin *in vitro* is better than that achieved by hyperthermic perfusion with oxaliplatin. Lobaplatin is more effective than oxaliplatin when administered by hyperthermic intraperitoneal perfusion and therefore has the potential to replace oxaliplatin in this setting.

【**Key words**】 Colorectal neoplasms; Peritoneal metastasis; Hyperthermic intraperitoneal chemotherapy; Loplatin; Organoids

Fund program: The Sixth Affiliated Hospital of Sun Yat-Sen University Clinical Research-"1010" Program [1010CG(2022)-08]

结直肠癌是世界上第三大常见的恶性肿瘤，死亡率居世界第2位[1]。大约有10%的结直肠癌患者发生腹膜转移[2]。结直肠癌腹膜转移患者预后差，中位生存期仅约6个月[3]。Sugarbaker于20世纪90年代提出了细胞减灭术（cytoreductive surgery，CRS）联合腹腔热灌注化疗（hyperthermic intraperitoneal chemotherapy，HIPEC）用于治疗结直肠癌腹膜转移[4]；目前已被广泛采用[5]。多项研究证实，对于腹膜转移病灶可完全切除或接近完全切除（肉眼可见病灶<2.5 mm）的患者，CRS+HIPEC可以显著提高结直肠癌腹膜转移患者的生存期[6-8]。

但是，对于HIPEC的方案并没有达成一致。一项纳入了171份HIPEC报告的系统评价表明，目前至少有60种HIPEC方案，其中铂类药物是HIPEC主要使用的药物之一，主要包括顺铂和奥沙利铂[9]。顺铂作为HIPEC药物，最早主要用于胃癌腹膜转移和腹膜间皮瘤，作为单一药物在结直肠癌腹膜转移中的应用较少。奥沙利铂是第一个用于结直肠癌的铂类药物，相比于顺铂和卡铂，其肾毒性更低，也是目前用于结直肠癌HIPEC的主要铂类药物[10]。但PRODIGE7研究表明，基于奥沙利铂的HIPEC并没有使患者生存获益[11]。COLOPEC研究表明，T4期或穿孔的结肠癌患者，术后预防性使用基于奥沙利铂的HIPEC不能降低术后腹膜转移发生率[12]。这使奥沙利铂作为结直肠癌腹膜转移HIPEC药物的作用受到了质疑。洛铂与奥沙利铂同样为第三代烷基化抗肿瘤药物，具有较好的水中溶解度及较好的稳定性，且对多种肿瘤具有较好的治疗作用和较低的毒性，在中国被批准用于治疗乳腺癌、非小细胞肺癌和慢性粒细胞白血病[13]。洛铂也是《结直肠癌腹膜转移腹腔预防与治疗用药中国专家共识》中用于腹腔内化疗的药物之一[14]。研究表明，洛铂对经奥沙利铂作用存活下来的结直肠癌LoVo细胞仍有较强的抑制作用[15]。洛铂用于结直肠癌腹膜转移HIPEC已有报道[16]；但其较奥沙利铂能否取得更好的效果，需要进一步研究进行探索。

而开展前瞻性研究对比不同药物的HIPEC疗效，较为困难。利用体外模型探索不同HIPEC方案的疗效，或许可以为临床决策提供帮助。

目前常用的体外模型主要包括癌细胞系、患者来源的肿瘤异种移植物（patient-derived tumor xenografts，PDTX）以及类器官。其中，肿瘤类器官是癌细胞的3D培养物，可由每例患者的肿瘤细胞获得[17]。大量证据证实，受试者来源的肿瘤类器官与其原始标本在组织病理学分子特征、药物反应性及遗传稳定性方面具有较高的相似性[18-20]。与需要大样本量的常规癌症模型（例如受试者来源的肿瘤异种移植模型）相比，类器官可以从小样本量培养而来（从针刺活检中提取），个性化肿瘤建模的成功率很高[21]。在切除了肿瘤的受试者中，可以从肿瘤的不同区域产生多种类器官，以更好地模拟肿瘤的异质性。因此，肿瘤类器官作为临床前模型进行药物敏感性筛查已逐渐用于指导临床个体化用药[22]。Vlachogiannis等[23]构建了转移性耐药结直肠癌患者的类器官模型，在预测患者对靶向药物或化疗效果方面，达到了100%的敏感度、93%的特异度、88%的阳性预测值和100%的阴性预测值。说明类器官药物敏感性检测在预测临床患者疗效方面有着较高的准确性。Ubink等[24]首次使用5例结直肠癌腹膜转移组织来源的类器官建立了体外HIPEC模型，用于评估奥沙利铂和丝裂霉素C的疗效，证明结直肠癌腹膜转移衍生的类器官可用于在个体患者水平上评估现有的HIPEC方案。因此，本研究利用结直肠癌患者来源的肿瘤类器官作为临床前模型，对奥沙利铂和洛铂进行体外热灌注药物敏感性测试，以辅助临床制定HIPEC治疗方案。

资料与方法

一、肿瘤类器官和患者临床资料的获取

结直肠癌类器官来源于中山大学附属第六医院2021年7月至2022年12月期间经病理确诊为结直肠癌的患者，收集其手术后切下的部分肿瘤组织。同时收集患者性别、年龄、体表面积、原发肿瘤部位及其组织学特征、肿瘤TNM分期、*KRAS*基因和*BRAF*基因突变情况及肿瘤组织取样前奥沙利铂化疗史等临床资料。本项研究获得了中山大学附属第六医院伦理委员会的批准（审批号：2022ZSLYEC-446）和深圳市第二人民医院（深圳大学第一附属医院）伦理委员会的批准（审批号：2023-252-01PJ）。

二、体外热灌注方案的制定

奥沙利铂临床用于HIPEC的剂量为460 mg/m^2，在42℃条件下热灌注30 min[25-26]。按照成年人体表面积为1.5~2.0 m^2，HIPEC溶液体积为3 L，可得到体外热灌注药物浓度为230 mg/L，即579 μmol/L，溶于去离子水中，热灌注温度为42℃，时间为30 min。

关于洛铂用于HIPEC的文献报道较少。结合文献[27-28]，本研究制定的洛铂体外热灌注方案为：洛铂浓度为120 mg/L（240 μmol/L），溶于去离子水中，热灌注温度为42℃，时间为60 min。

三、主要试剂和仪器

主要试剂：消化液Ⅰ（Accuroid，中国）、消化液Ⅱ（Accuroid，中国）、Hank平衡盐溶液（上海源培生物，中国）、Matrigel基质胶（Corning，美国）、TrypLE Express Enzyme（1×）（Gibco，美国）、肠癌类器官培养基（Accuroid，中国）、细胞回收液（Corning，美国）、发光试剂（Promega，美国）、奥沙利铂（meilunbio，中国）、洛铂（海南长安，中国）。

主要仪器：生物安全柜（BSC-Ⅱ1500A2，中国）、二氧化碳培养箱（C1-191C，美国）、低速离心机（Beckman Coulter，美国）、双温冰箱（BCD-272WDPD，中国）、倒置显微镜（OLYMPUS，日本）、化学发光微孔读板机（LUMIstar Omega，德国）。

四、类器官培养

样本清洗后，用剪刀将组织剪至约1 mm^{3}小块，再向组织块中加入“消化液Ⅰ”于37℃摇床中震荡消化2~4 h。于1 300 rpm，离心3 min，向沉淀中加入“消化液Ⅱ”于37℃摇床中消化10~20 min。用Hank平衡盐溶液重悬沉淀，使用70 μm细胞筛网过滤收集滤液，离心。再用培养基重悬细胞沉淀，按比例混合细胞悬液和基质胶。将混合后的细胞液50~60 μl每滴滴在培养皿上，放入二氧化碳培养箱，待其凝固后加入4 ml的培养基。每隔2~3 d观察样本生长情况，根据样本生长情况，适时进行换液或传代。若样本活性较差可提前终止培养，更换其他样本入组实验。

五、体外热灌注敏感性检测

根据实验方案设计类器官药敏铺板布局，分为实验组和对照组。实验组对类器官进行药物处理，对照组类器官不予药物处理，37℃正常培养。

入组样本显微镜拍照记录样本状态后，将培养皿中的培养基吸出，保留胶滴。再向培养皿中加入3 ml的TrypLE Express Enzyme（1×）消化液，将胶滴

吹散，团块较大的类器官样本置于37℃培养箱消化3~5 min/次，待类器官消化成均一的含数个细胞的细胞团时，加入两倍体积的Advanced DMEM/F12培养基终止消化，离心弃上清后用200 μmol/L肠癌类器官培养基重悬细胞，取10 μl计数，按2 000个细胞/孔稀释相应体积的类器官进行铺板。

用肠癌类器官培养基重悬细胞，按照培养基与胶2∶3的比例进行稀释后，用单通道移液器将混合胶以10 μl/孔分液到96孔板中；培养基与胶按相同比例混匀，以10 μl/孔分液到96孔板中作为空白对照；种胶完成放置于培养箱30 min后，按照90 μl/孔加入预热的培养基；向药物测试孔以及对照孔周边的空孔中加入90 μl的生理盐水进行封边。

在类器官接种到96孔板2 d后，可进行加药热灌注实验，培养箱提前预热至42℃，并将类器官培养基进行预热；根据具体药物加药方案用培养基进行药物稀释，将稀释好的药物放入42℃的培养箱中预热，预热完成后将药物加入类器官组，热灌注实验结束后，将类器官孔中的药物更换为培养基继续培养。

六、类器官活力检测

使用ATP化学发光检测法检测细胞活力。类器官加药热灌注处理4 d后，显微镜观察每孔样本状态，将培养基吸出，加入50 μl细胞回收液，4℃放置1 h，检测前加入50 μl发光试剂，上机检测。

抑制率的计算：（对照组的ATP发光值−实验组的ATP发光值）/对照组的ATP发光值×100%。其中，实验组与对照组的ATP发光值均在实际测得值的基础上减去相应处理的基质与胶的ATP发光值。

七、类器官对奥沙利铂和洛铂药物浓度反应能力的检测

为了评估奥沙利铂和洛铂体外热灌注剂量反应能力，使用10例结直肠癌肿瘤组织来源的类器官分别进行1 000、250、62.5、15.6、3.9和0.98 μmol/L共6种浓度梯度的奥沙利铂和洛铂体外热灌注实验，奥沙利铂于42℃环境下与类器官接触30 min，洛铂于42℃环境下与类器官接触60 min，分别绘制其剂量反应曲线。

八、临床剂量下奥沙利铂和洛铂体外热灌注敏感性的测试

为了对比奥沙利铂和洛铂在临床药物剂量下对结直肠癌类器官的热灌注敏感性，使用30例类器官进行奥沙利铂和洛铂的临床剂量测试。奥沙利铂浓度为579 μmol/L，热灌注温度为42℃，时间为30 min；洛铂浓度为240 μmol/L，热灌注温度为42℃，时间为60 min。同时，对有无奥沙利铂化疗史患者的奥沙利铂体外热灌注抑制率，进一步做亚组分析，有8例患者取样前使用了含有奥沙利铂（氟尿嘧啶+奥沙利铂、或氟尿嘧啶+奥沙利铂+伊立替康）的化疗方案，进一步研究肿瘤组织取样前有无奥沙利铂化疗史对奥沙利铂体外热灌注敏感性的抑制率。

九、统计学方法

使用SPSS 26.0和GraphPad Prism 9.0软件进行统计分析。对符合正态分布的计量资料采用$\bar{x}\pm s$表示，平均抑制率采用$\bar{x}$（95%CI）表示，不符合正态分布的计量资料采用M（IQR）表示；定性资料采用例（%）表示。采用t检验用于符合正态分布计量资料的比较，Wilcoxon秩和检验用于非正态分布计量资料的比较。P<0.05（双侧）表示差异有统计学意义。

结　果

一、纳入患者的临床特征

来自32例结直肠癌患者的肿瘤组织成功培养出了类器官。32例患者的临床特征见表1。

二、类器官培养结果及鉴定

32例患者的原发肿瘤组织或转移组织产生的类器官表现出不同的形态，见图1。类器官形态主要是管状形成，苏木精-伊红染色可见大量异性细胞，与原始转移灶的组织学非常相似。

三、奥沙利铂和洛铂体外热灌注剂量反应曲线

评估类器官对奥沙利铂和洛铂药物1 000、250、62.5、15.6、3.9和0.98 μmol/L共6种浓度梯度反应能力的剂量反应曲线表明，药物敏感性在个体患者来源的类器官之间差异很大，见图2。

奥沙利铂消除50%肿瘤细胞所需的浓度（IC_{50}）中位数为577.45（1 846.09）μmol/L；洛铂的IC_{50}中位数为85.04（305.01）μmol/L；组间比较差异无统计学意义（Z=1.784，P=0.084），见图3。但10个类器官中有7个（2B、2C、2D、2E、2F、2G、2J）结果显示，洛铂体外热灌注IC_{50}大于奥沙利铂。

四、临床剂量下奥沙利铂和洛铂体外热灌注的敏感性

奥沙利铂和洛铂在临床药物剂量下对结直肠

表 1 全组 32 例结直肠癌患者的一般临床特征

临床特征	数据
性别[例(%)]	
男	20(62.5)
女	12(37.5)
年龄(岁,$\bar{x}\pm s$)	57.8±14.7
体表面积(m^2,$\bar{x}\pm s$)	1.74±0.16
原发肿瘤部位[例(%)]	
右半结肠	4(12.5)
左半结肠	17(53.5)
直肠	11(34.5)
组织学特征[例(%)]	
中-高分化腺癌	28(87.5)
低分化腺癌	3(9.4)
黏液腺癌	1(3.1)
肿瘤 T 分期[例(%)]	
Tis~T2	6(18.8)
T3~4	23(71.9)
不详	3(9.4)
肿瘤 N 分期[例(%)]	
N0	16(50.0)
N1~2	13(40.6)
不详	3(9.4)
肝转移[例(%)]	
是	4(12.5)
否	28(87.5)
肺转移[例(%)]	
是	4(12.5)
否	28(87.5)
腹膜转移[例(%)]	
是	7(21.9)
否	25(78.1)
KRAS 基因[例(%)]	
野生	7(21.9)
突变	5(15.6)
未检测	20(62.5)
BRAF 基因[例(%)]	
野生	12(37.5)
突变	0
未检测	20(62.5)
奥沙利铂化疗史[例(%)]	
有	9(28.1)
无	23(71.9)

癌类器官热灌注敏感性的对比结果显示:奥沙利铂的平均抑制率为 39.6%(95%CI:32.1%~47.0%),洛铂的平均抑制率明显高于奥沙利铂,为 89.7%(95%CI:87.0%~92.3%),两者比较差异有统计学意义(t=−15.282,P<0.001)。见图 4。

五、有无奥沙利铂化疗史对奥沙利铂体外热灌注敏感性的影响

有奥沙利铂化疗史患者的奥沙利铂体外热灌注平均抑制率为 42.2%(95%CI:24.6%~59.7%),无奥沙利铂化疗史的平均抑制率则为 38.6%(95%CI:29.8%~47.4%),差异无统计学意义(t=0.429,P=0.671)。见图 5。

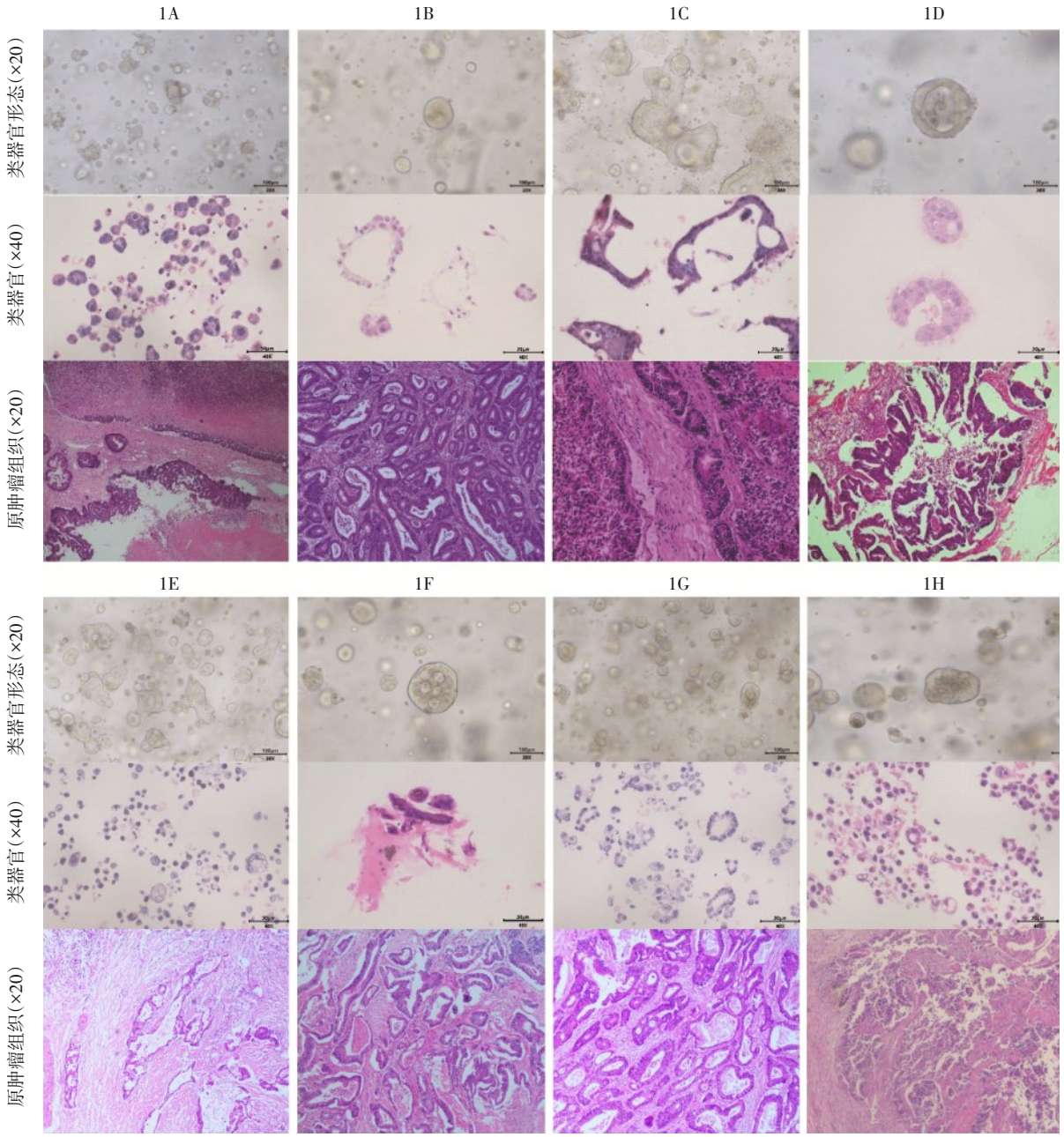
讨 论

本研究利用结直肠癌患者来源的肿瘤类器官成功建立了体外 HIPEC 体系,对奥沙利铂和洛铂进行体外热灌注药物敏感性测试。虽然两种药物在体外热灌注的 IC_{50} 对比中差异没有显示具有统计学意义,但是洛铂的 IC_{50} 中位数较奥沙利铂低,数值上差异较大,10 个类器官中有 7 个结果显示洛铂体外热灌注 IC_{50} 大于奥沙利铂,且 P 值接近 0.05,如果扩大样本量进行重复实验,可能会得到有统计学意义的结果。

临床剂量下,奥沙利铂和洛铂对结直肠癌类器官体外热灌注的抑制率差异较大,奥沙利铂的体外热灌注平均抑制率只有 39.6%,且无论组织取样前患者是否使用过奥沙利铂化疗,奥沙利铂体外热灌注的敏感性均较低。相比之下,洛铂的体外热灌注平均抑制率达 89.7%。

铂类作为一种古老的抗肿瘤药物,其通过引起链内和链间交联键以及 DNA-蛋白质交联键,在体外和体内均能起到直接杀灭肿瘤细胞的作用[29]。这为其用于 HIPEC 提供了药理学基础。奥沙利铂应用于 HIPEC,源于 Elias 等[30]于 20 世纪末以奥沙利铂作为 HIPEC 药物进行的一项二期临床研究,该项研究虽然取得了较好的结果,但缺乏对照组。而近期发表的两项关于奥沙利铂作为结直肠癌 HIPEC 药物的随机对照试验,PRODIGE7 研究[11]和 COLOPEC 研究[12]均得到了阴性结果。本研究的结果在一定程度上,可以解释两项研究的阴性结果。

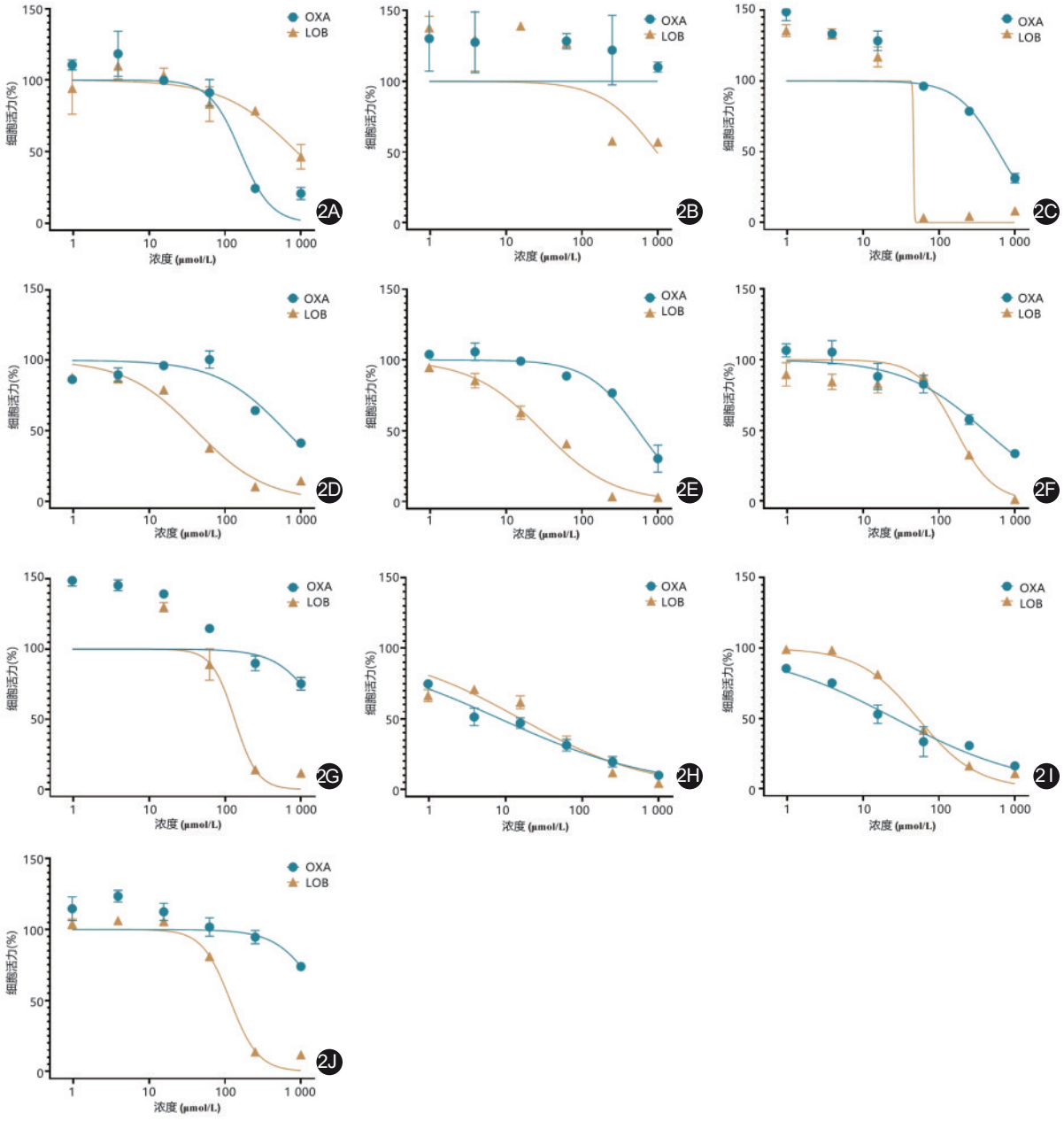
关于奥沙利铂方案敏感性低的原因之一,可能是热灌注时间较短。有类器官模型研究表明,高剂量短程奥沙利铂(460 mg/m^2,热灌注 30 min)不如长程低剂量奥沙利铂(200 mg/m^2,热灌注 120 min),体外对类器官的抑制率分别为 53% 和 31%[31]。另一



注：图 1A 所示类器官为腹膜转移组织培养而成；1B、1C、1E、1F、1G 和 1H 所示类器官为结肠癌组织培养而成；1D 所示类器官为直肠癌组织培养而成；1B 所示肿瘤组织为低分化腺癌；1A、1C、1D、1E、1F、1G 和 1H 所示肿瘤组织为中分化腺癌，1B、1D 和 1G 所示类器官形态主要为管状形成

图 1　部分患者肿瘤组织培养出的类器官型态及类器官与肿瘤组织的苏木精-伊红染色　1A.腹膜转移组织来源，中分化腺癌；1B.结肠癌组织来源，中分化腺癌，管状形成；1C.结肠癌组织来源，中分化腺癌；1D.直肠癌组织培养来源，中分化腺癌，管状形成；1E.结肠癌组织培养来源，中分化腺癌；1F.结肠癌组织来源，中分化腺癌；1G.结肠癌组织来源，中分化腺癌，管状形成；1H.结肠癌组织来源，中分化腺癌

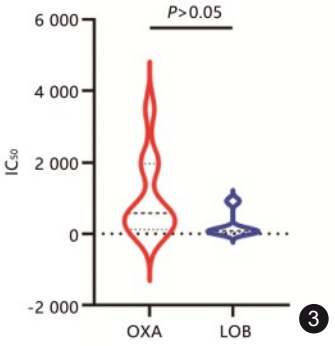
个原因，可能是患者存在对奥沙利铂耐药的问题。基于 PRODIGE7 研究结果认为，若在 CRS+HIPEC 之前使用过含有奥沙利铂的化疗方案，可能会增加肿瘤细胞对奥沙利铂的耐药性，因此不适合使用奥沙利铂作为 HIPEC 方案[32]。Andreou 等[33]在结直肠癌肝转移患者的研究中发现，接受奥沙利铂化疗患者的 *RAS* 突变率更高，与异时性结直肠癌肝转移行肝切除术后的不良预后相关。本研究通过对肿瘤取样前有无奥沙利铂化疗史对类器官的抑制率对比，发现两组之间差异没有统计学意义，这说明可能有一部分患者本身对奥沙利铂是不敏感的。奥沙利铂也许不适合作为结直肠癌 HIPEC 的药物。

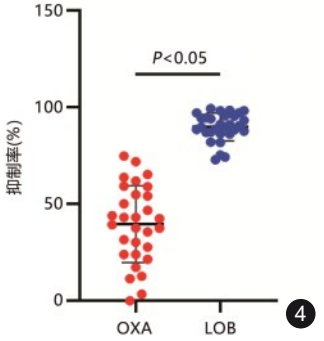


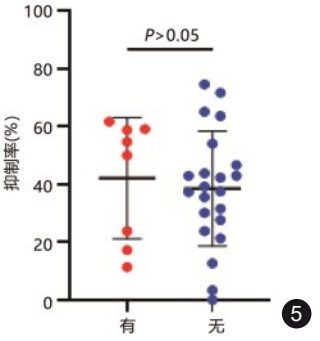
注：OXA：奥沙利铂；LOB：洛铂

图 2 10 例类器官对奥沙利铂和洛铂体外热灌注的剂量反应曲线 2A~2J. 分别为每例类器官的剂量反应曲线

洛铂不仅具有铂类直接杀伤肿瘤细胞的作用机制，还可以影响 *c-myc* 基因的表达[34]。该基因参与肿瘤发生、凋亡和细胞增殖。目前，洛铂没有被批准用于结直肠癌全身化疗，但研究表明，洛铂可在体外通过诱导细胞凋亡和调节半胱天冬酶家族抑制结直肠癌细胞的增殖[35-36]。洛铂用于腹腔内化疗的小鼠模型实验表明，洛铂作为腹腔内化疗药物抑制了结直肠肿瘤生长，且未显示洛铂引起的任何肝肾毒性[35]。目前，洛铂用于 HIPEC 的研究报道较少，文献中用于 HIPEC 的洛铂剂量采用的大都为静脉推荐剂量 50 mg/m^2，换算为腹腔浓度约为 25 mg/L，即 50 μmol/L，未达到本研究中洛铂热灌注的中位 IC_{50} 值。洛铂用于腹腔灌洗的药代动力学研究表明，人体正常温度下，腹腔灌注 120 mg/L（240 μmol/L）洛铂，血液中吸收的洛铂浓度在 0.5~1.0 h 达到峰值，且峰浓度仅为静脉给药的 1/49[28]。而洛铂的主要不良反应为血小板降低，且降低程度与血液中的洛铂浓度呈正相关[37]。因此我们认为，将洛铂的 HIPEC 浓度设置为 240 μmol/L 是较为安全的。但即使如此，240 μmol/L 腹腔浓度的洛铂热灌注试







注：OXA：奥沙利铂；LOB：洛铂

图 3　10 例类器官对奥沙利铂和洛铂体外热灌注的 50% 肿瘤细胞所需的浓度（IC_{50}）分布　**图 4**　30 例类器官对临床剂量下奥沙利铂和洛铂体外热灌注的抑制率　**图 5**　有无奥沙利铂化疗史在奥沙利铂体外热灌注的抑制率

验尚未在人群中展开，其安全性还需要更多研究去验证。

本研究的另一个局限性，是结直肠癌腹膜转移来源的类器官较少。一方面，是腹膜转移的手术患者相对较少；另一方面，是腹膜转移的样本往往伴随较多的纤维化组织，取样和类器官培养的成功率较低。总体而言，本研究为洛铂成为新的 HIPEC 药物提供了一定的证据支持。

综上，洛铂在体外热灌注的敏感性优于奥沙利铂，有望代替奥沙利铂成为新的 HIPEC 药物。

利益冲突　创芯国际生物科技（广州）有限公司为作者单位之一，参与了实验设计、实施及数据分析，并为研究提供了药物、仪器及实验技术支持

作者贡献声明　刘铎参与研究实施、研究数据采集、数据分析及论文撰写，邓伟豪参与研究实施、病理数据的收集和整理，兰坚强参与实验设计及数据分析，宋志文、朱宇、井建玲参与实验实施及数据整理，王辉、蔡建参与研究设计、实施及论文初稿审阅与修订

参　考　文　献

[1] Sung H, Ferlay J, Siegel RL, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA Cancer J Clin, 2021,71(3):209-249. DOI: 10.3322/caac.21660.

[2] Segelman J, Granath F, Holm T, et al. Incidence, prevalence and risk factors for peritoneal carcinomatosis from colorectal cancer[J]. Br J Surg, 2012,99(5):699-705. DOI: 10.1002/bjs.8679.

[3] Koppe MJ, Boerman OC, Oyen WJ, et al. Peritoneal carcinomatosis of colorectal origin: incidence and current treatment strategies[J]. Ann Surg, 2006,243(2):212-222. DOI: 10.1097/01.sla.0000197702.46394.16.

[4] Jacquet P, Averbach AM, Stephens AD, et al. Cancer recurrence following laparoscopic colectomy. Report of two patients treated with heated intraperitoneal chemotherapy[J]. Dis Colon Rectum, 1995,38(10):1110-1114. DOI: 10.1007/BF02133989.

[5] Bushati M, Rovers KP, Sommariva A, et al. The current practice of cytoreductive surgery and HIPEC for colorectal peritoneal metastases: results of a worldwide web-based survey of the peritoneal surface oncology group international (PSOGI) [J]. Eur J Surg Oncol, 2018, 44(12):1942-1948. DOI:10.1016/j.ejso.2018.07.003.

[6] Elias D, Lefevre JH, Chevalier J, et al. Complete cytoreductive surgery plus intraperitoneal chemohyperthermia with oxaliplatin for peritoneal carcinomatosis of colorectal origin[J]. J Clin Oncol, 2009,27(5):681-685. DOI:10.1200/JCO.2008.19.7160.

[7] Razenberg LG, van Gestel YR, Creemers GJ, et al. Trends in cytoreductive surgery and hyperthermic intraperitoneal chemotherapy for the treatment of synchronous peritoneal carcinomatosis of colorectal origin in the Netherlands[J]. Eur J Surg Oncol, 2015, 41(4): 466-471. DOI: 10.1016/j.ejso.2015.01.018.

[8] Verwaal VJ, van Ruth S, de Bree E, et al. Randomized trial of cytoreduction and hyperthermic intraperitoneal chemotherapy versus systemic chemotherapy and palliative surgery in patients with peritoneal carcinomatosis of colorectal cancer[J]. J Clin Oncol, 2003,21(20):3737-3743. DOI: 10.1200/JCO.2003.04.187.

[9] Yurttas C, Hoffmann G, Tolios A, et al. Systematic review of variations in hyperthermic intraperitoneal chemotherapy (HIPEC) for peritoneal metastasis from colorectal cancer[J]. J Clin Med, 2018,7(12). DOI:10.3390/jcm7120567.

[10] Hartmann JT, Lipp HP. Toxicity of platinum compounds[J]. Expert Opin Pharmacother, 2003,4(6):889-901. DOI: 10.1517/14656566.4.6.889.

[11] Quénet F, Elias D, Roca L, et al. Cytoreductive surgery plus hyperthermic intraperitoneal chemotherapy versus cytoreductive surgery alone for colorectal peritoneal metastases (PRODIGE 7): a multicentre, randomised, open-label, phase 3 trial[J]. Lancet Oncol, 2021, 22(2): 256-266. DOI: 10.1016/S1470-2045(20)30599-4.

[12] Klaver CEL, Wisselink DD, Punt CJA, et al. Adjuvant hyperthermic intraperitoneal chemotherapy in patients with locally advanced colon cancer (COLOPEC): a multicentre, open-label, randomised trial[J]. Lancet Gastroenterol Hepatol, 2019, 4(10): 761-770. DOI: 10.1016/S2468-1253(19)30239-0.

[13] Wheate NJ, Walker S, Craig GE, et al. The status of

platinum anticancer drugs in the clinic and in clinical trials[J]. Dalton Trans, 2010, 39(35): 8113-8127. DOI: 10.1039/c0dt00292e.

[14] 裴炜, 熊斌, 崔书中,等. 结直肠癌腹膜转移预防和治疗腹腔用药中国专家共识(V2019)[J/CD]. 中华结直肠疾病电子杂志 , 2019, 8(4): 329-335. DOI: 10.3877/cma. j. issn. 2095-3224.2019.04.002.

[15] 白雪,于波,苑树俊,等. 洛铂和奥沙利铂对结直肠癌细胞系生物学行为影响的实验研究[J]. 临床肿瘤学杂志, 2009,14(8): 690-693. DOI:10.3969/j.issn.1009-0460.2009.08.005.

[16] Guo X, Lin Y, Shen C, et al. Comparative study of short-term efficacy and safety of mitomycin versus lobaplatin for hyperthermic intraperitoneal chemotherapy after radical surgery in colorectal cancer with high-risk Factors for peritoneal carcinomatosis: a propensity score matching analysis[J]. Curr Oncol, 2023, 30(2): 1488-1501. DOI:10.3390/curronco l30020114.

[17] Drost J, Clevers H. Organoids in cancer research[J]. Nat Rev Cancer, 2018, 18(7): 407-418. DOI: 10.1038/s41568-018-0007-6.

[18] van de Wetering M, Francies HE, Francis JM, et al. Prospective derivation of a living organoid biobank of colorectal cancer patients[J]. Cell, 2015, 161(4): 933-945. DOI:10.1016/j.cell.2015.03.053.

[19] Pauli C, Hopkins BD, Prandi D, et al. Personalized in vitro and in vivo cancer models to guide precision medicine[J]. Cancer Dis, 2017,7(5):462-477. DOI: 10.1158/2159-8290. CD-16-1154.

[20] Ganesh K, Wu C, O'Rourke KP, et al. A rectal cancer organoid platform to study individual responses to chemoradiation[J]. Nat Med, 2019,25(10):1607-1614. DOI: 10.1038/s41591- 019-0584-2.

[21] Huang L, Holtzinger A, Jagan I, et al. Ductal pancreatic cancer modeling and drug screening using human pluripotent stem cell- and patient-derived tumor organoids[J]. Nat Med, 2015, 21(11):1364-1371. DOI: 10.1038/nm.3973.

[22] Wensink GE, Elias SG, Mullenders J, et al. Patient-derived organoids as a predictive biomarker for treatment response in cancer patients[J]. NPJ Précis oncol, 2021, 5(1):30. DOI: 10.1038/s41698-021-00168-1.

[23] Vlachogiannis G, Hedayat S, Vatsiou A, et al. Patient-derived organoids model treatment response of metastatic gastrointestinal cancers[J]. Science, 2018, 359(6378):920-926. DOI: 10.1126/science.aao2774.

[24] Ubink I, Bolhaqueiro ACF, Elias SG, et al. Organoids from colorectal peritoneal metastases as a platform for improving hyperthermic intraperitoneal chemotherapy[J]. Br J Surg, 2019,106(10):1404-1414. DOI: 10.1002/bjs.11206.

[25] van Eden WJ, Kok NFM, Woensdregt K, et al. Safety of intraperitoneal mitomycin c versus intraperitoneal oxaliplatin in patients with peritoneal carcinomatosis of colorectal cancer undergoing cytoreductive surgery and HIPEC[J]. Eur J Surg Oncol, 2018,44(2): 220-227. DOI: 10.1016/j.ejso.2017.10.216.

[26] Klaver CE, Musters GD, Bemelman WA, et al. Adjuvant hyperthermic intraperitoneal chemotherapy (HIPEC) in patients with colon cancer at high risk of peritoneal carcinomatosis; the COLOPEC randomized multicentre trial[J]. BMC cancer, 2015,15: 428. DOI: 10.1186/s12885-015-1430-7.

[27] Pei W, Zhou S, Zhang J, et al. Lobaplatin-based hyperthermic intraperitoneal chemotherapy for patients with peritoneal metastasis from appendiceal and colorectal cancer: safety and efficacy profiles[J]. Cancer Manag Res, 2020, 12:12099-12110. DOI: 10.2147/CMAR.S281434.

[28] 张睿, 石刚, 杨世华,等. 洛铂用于结直肠癌术中腹腔灌注化疗的药代动力学研究[J/CD]. 中华结直肠疾病电子杂志, 2020, 9(2): 144-149. DOI: 10.3877/cma. j. issn. 2095-3224. 2020.02.007.

[29] Mathé G, Kidani Y, Segiguchi M, et al. Oxalato-platinum or 1-OHP, a third-generation platinum complex: an experimental and clinical appraisal and preliminary comparison with cis-platinum and carboplatinum[J]. Biomed Pharmacother, 1989, 43(4): 237-250. DOI: 10.1016/0753-3322(89)90003-6.

[30] Elias D, Sideris L, Pocard M, et al. Efficacy of intraperitoneal chemohyperthermia with oxaliplatin in colorectal peritoneal carcinomatosis. Preliminary results in 24 patients[J]. Ann Oncol, 2004, 15(5): 781-785. DOI: 10.1093/annonc/mdh186.

[31] Forsythe SD, Sasikumar S, Moaven O, et al. Personalized identification of optimal HIPEC perfusion protocol in patient-derived tumor organoid platform[J]. Ann Surg Oncol, 2020, 27(13): 4950-4960. DOI: 10.1245/s10434-020-08790-2.

[32] Sugarbaker PH. Intraperitoneal delivery of chemotherapeutic agents for the treatment of peritoneal metastases: current challenges and how to overcome them[J]. Expert Opin Drug Deliv, 2019, 16(12): 1393-1401. DOI: 10.1080/17425247.2019.1693997.

[33] Andreou A, Kopetz S, Maru DM, et al. Adjuvant chemotherapy with FOLFOX for primary colorectal cancer is associated with increased somatic gene mutations and inferior survival in patients undergoing hepatectomy for metachronous liver metastases[J]. Ann Surg, 2012, 256(4):642-650. DOI: 10.1097/SLA.0b013e31826b4dcc.

[34] McKeage MJ. Lobaplatin: a new antitumour platinum drug [J]. Expert Opin Investig Drugs, 2001,10(1):119-128. DOI: 10.1517/13543784.10.1.119.

[35] Dai HY, Liu L, Qin SK, et al. Lobaplatin suppresses proliferation and induces apoptosis in the human colorectal carcinoma cell Line LOVO in vitro[J]. Biomed Pharmacother, 2011, 65(3): 137-141. DOI: 10.1016/j. biopha.2010.12. 001.

[36] Shan L, Bai B, Lv Y, et al. Lobaplatin suppresses proliferation and peritoneal metastasis of colorectal cancer in a preclinical model[J]. Biomed Pharmacother, 2018,108:486-491. DOI: 10.1016/j.biopha.2018.09.063.

[37] Welink J, Boven E, Vermorken JB, et al. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of lobaplatin (D-19466) in patients with advanced solid tumors, including patients with impaired renal of liver function[J]. Clin Cancer Res, 1999,5(9):2349-2358.