

胃癌 3D 生物打印模型在胃恶性肿瘤个体化治疗中的应用

屠洋洋, 刘东良, 黄钟庭, 张智勇, 袁丰, 钱海龙

【摘要】目的 探讨胃癌 3D 生物打印(3DP)模型在胃恶性肿瘤个体化治疗中的应用效果。**方法** 纳入宁波市医疗中心李惠利医院 2024 年 2—4 月收治的胃癌患者 50 例, 建立患者来源的胃癌 3DP 模型。随机将患者分为个体化治疗组与对照组, 个体化治疗组根据 3DP 模型药物敏感性测试结果选择治疗方案, 对照组按照指南推荐的标准辅助治疗方案, 观察比较两组的无病生存期(DFS)、复发率及死亡率, 评估治疗的安全性。**结果** 免疫组化及免疫荧光染色显示胃癌 3DP 肿瘤模型及其对应的亲本肿瘤组织的肿瘤标志物高度一致, 说明胃癌 3DP 肿瘤模型高度保留亲本肿瘤组织学特征。个体化治疗组平均无病生存期(mDFS)高于对照组、复发率低于对照组(均 $P < 0.05$), 两组死亡率差异无统计学意义($P > 0.05$)。**结论** 基于胃癌 3DP 肿瘤模型的个体化治疗, 可提高患者的 DFS、降低复发率, 改善患者预后。

【关键词】 生物 3D 打印技术; 药敏检测; 胃癌

doi:10.3969/j.issn.1671-0800.2025.05.008

【中图分类号】 R735.2 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 1671-0800(2025)05-0476-03

胃癌(gastric cancer, GC)是全球第五大常见的恶性肿瘤,也是导致癌症相关死亡的第二大原因^[1]。虽然目前GC的诊断和治疗方法有所改善,但转移或复发患者的预后仍然很差。由于肿瘤的异质性及肿瘤微环境的复杂性,不同患者对相同药物及放射治疗反应不同,辅助治疗方案的选择主要依赖临床经验,患者实际反应率仍不理想。传统永生化的二维(2D)癌细胞系仍然是当前人类研究癌症的主要工具,具有成本低、使用方便等特点,然而在细胞系的构建过程中,仅有少数癌细胞能够成功生长,而且要广泛适应细胞培养板上的生长条件,因此大多不能反映亲代肿瘤的真实情况。且经过几十年的定期传代,形成的单基因细胞系已无法再现其来源肿瘤的异质性。

相比之下,患者衍生肿瘤异种移植(PDX)模型和患者源性肿瘤类器官(PDO)模型能更大程度上保持亲代肿瘤的组织学和基因组畸变模式。PDX模型起步早,但存在周期长、成功率低、价格高及异种肿瘤微环境难以理想化等缺点,限制了其临床应用^[2-3]。PDO模型虽是近十年研究热点^[4-6],但在操作重复性、样品一致性及成本等方面存在固有缺陷,且缺乏标准化的

结果评价方法^[7-8]。

近年来,3D生物打印(3DP)技术的兴起为肿瘤模型的研究提供了新的方向^[9-12]。其具备高精度、高效、高一致性等优势,克服传统类器官技术的限制,并且在构建多细胞微环境方面具有天然优势^[13-15]。有研究人员前期已经成功建立了患者来源的肝癌细胞和结肠癌肝转移细胞的3DP模型,并初步证实3DP在肿瘤药物筛选中的可靠价值^[16-20]。因此,本研究利用患者来源的组织建立3D打印胃癌模型,并基于药敏检测结果探讨个体化治疗的效果和安全性,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 纳入宁波市医疗中心李惠利医院 2024 年 2—4 月收治的胃癌患者 50 例。纳入标准:年龄 ≥ 18 岁;确诊为GC,计划术后辅助化疗;无其它肿瘤疾病史。排除标准:妊娠哺乳期妇女、沟通交流障碍、配合度差及相应手术禁忌者。本研究获得宁波市医疗中心李惠利医院医学伦理委员会批准,所有研究者均同意参加本研究并签署书面知情同意书。

1.2 模型构建 采集手术切除的肿瘤组织(1~2g),将取得的肿瘤组织分成两份,分别用于病理检测和模型构建。将模型构建的样本用无菌 PBS 清洗,去掉异物,剪成 $\leq 1\text{mm}^3$ 组织,胶原酶 37℃消化 30~90 min,过细胞筛网,清洗 3 次,计算细胞数和活率,调整细胞

基金项目: 浙江省医药卫生科技计划项目(2025KY1277)

作者单位: 315040 宁波,宁波市医疗中心李惠利医院

通信作者: 钱海龙, Email: M_duoduo@163.com

浓度后加入生物材料。配制生物墨水,按照设定参数打印模型,后加入培养基长期培养,每3天更换培养基,见封三图2。

1.3 模型验证 通过免疫组化及免疫荧光染色技术,分别观察3DP肿瘤模型及其对应的亲本肿瘤组织的肿瘤标志物,明确肿瘤3DP模型高度保留亲本肿瘤组织学特征。

1.4 药物敏感性测试 (1)药物类型,包括单药和联合用药。单药:奥沙利铂、5-氟尿嘧啶、伊立替康、多西他赛、顺铂、紫杉醇。联合用药:奥沙利铂+5-氟尿嘧啶,伊立替康+5-氟尿嘧啶,紫杉醇+5-氟尿嘧啶。(2)确定合适给药浓度。体外给药(0、0.1、1、10、30、100 μmol/L),每个药物浓度包含3个复孔。每24小时更换含有特定药物浓度的培养基。药物处理72h后,通过Cell Titer-Glo-3D细胞活力测定(Promega, G9682)评估细胞活性。使用Graphpad prism 9(LA Jolla, CA, USA)绘制IC₅₀曲线并计算IC₅₀值。

1.5 辅助化疗 随机将患者分为个体化治疗组与对照组,各25例,两组一般资料差异均无统计学意义(均P > 0.05),见表1。对照组患者术后给予指南推荐的标准辅助治疗方案,个体化治疗组患者根据3DP模型药物敏感性测试结果选择治疗方案。本研究的主要终点为无病生存期,次要终点为复发、死亡,随访时间9个月。

1.6 统计方法 采用SPSS 26.0软件进行分析,计数资料比较采用χ²检验,生存分析采用Kaplan-Meier生存分析。P < 0.05表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 3DP肿瘤模型的验证 通过免疫组化及免疫荧光染色技术,分别观察3DP肿瘤模型及其对应的亲本肿瘤组织的肿瘤标志物,发现二者高度一致,说明3DP肿瘤模型高度保留亲本肿瘤组织学特征,见封三图3。

2.2 药敏结果及化疗方案 单一化疗药物对肿瘤细胞大部分不敏感,联合用药对胃癌肿瘤细胞药物敏感性增加,见表2。对照组均采用奥沙利铂+5-氟尿嘧啶方案辅助化疗;个体化治疗组12例采用奥沙利铂+5-氟尿嘧啶方案,6例采用伊立替康+5-氟尿嘧啶方案,7例采用紫杉醇+5-氟尿嘧啶方案。

2.3 两组预后分析 个体化治疗组 mDFS 为 7.20

个月,对照组为 6.04 个月,差异有统计学意义(P < 0.05),见封三图4。对照组9例复发,2例死亡;个体化治疗组3例复发,无死亡病例,两组复发率差异有统计学意义(χ²=3.97, P < 0.05),死亡率差异无统计学意义(χ²=2.08, P > 0.05)。

3 讨论

近年来随着3DP技术的飞速发展,3DP器官模型在医学领域具有广阔的前景。目前,3DP肿瘤模型已经广泛应用于包括肝细胞癌、胰腺癌、结直肠癌、卵巢癌和神经母细胞瘤在内的多种实体瘤中。研究显示,结直肠癌/结直肠癌肝转移(CRC/CRLM)3DP肿瘤模型可有效保留亲本肿瘤生物标志物和突变谱,CRLM 3DP模型中的药物反应与新辅助化疗的临床结果之间存在明显的相关性^[20]。可见患者来源的3DP肿瘤模型在CRC/CRLM的精准化疗预测和临床前研究中的应用具有巨大的潜力。近年来,Juraski等^[21]将智能细胞培养系统和生物传感器整合到3DP模型中,通过解决当前血管形成、电生理控制和可扩展性等方面,为药物筛选提供高度详细和功能性的器官模型,以获得更可靠、更准确的药物开发数据,从而降低临床试验期间药物失败的风险。

目前晚期胃癌的一线治疗平均生存期为1~2

表1 个体化治疗组与对照组临床资料

指标	个体化治疗组	对照组	例
性别	男	15	13
	女	10	12
年龄(岁)	≥60	11	9
	<60	14	16
胃癌分型	肠型	18	19
	弥漫型	7	6
胃癌病理分型	腺癌	20	19
	印戒细胞癌	5	6
术后病理 TNM 分期	IIIA 期	7	8
	IIIB 期	6	9
	IIIC 期	12	8
肿瘤位置	胃窦	10	13
	胃体	9	8
	胃底贲门	6	4

表2 药敏结果

方案	个体化治疗组			对照组			例
	敏感	中介	不敏感	敏感	中介	不敏感	
奥沙利铂+5-氟尿嘧啶	12	2	11	11	2	12	
伊立替康+5-氟尿嘧啶	5	1	19	6	2	17	
紫杉醇+5-氟尿嘧啶	6	1	18	5	2	18	

年。若患者出现一线治疗耐药，二线抗癌药物方案效果远低于一线，故对于胃癌根治术后病理分期偏晚的患者选择其敏感的化疗方案至关重要。本研究纳入 50 例 III 期胃癌患者，分为两组，对照组根据 2024 版 CSCO 胃癌诊疗指南推荐的临床常用化疗方案，个体化治疗组联合用药方案为奥沙利铂+5-氟尿嘧啶、伊立替康+5-氟尿嘧啶及紫杉醇+5-氟尿嘧啶。由于目前胃癌术后未常规行基因检测，所以纳入的胃癌患者无法进行基因层面的分组，且本研究进一步对比两组患者的不同病理特征，包括肠型/弥漫型、腺癌/印戒细胞癌、Her2 阳性/Her2 阴性，在药物敏感性方面未显示出差异性及其规律性，因此个体化治疗组化疗方案是根据药物敏感性测试结果选择的。药物敏感性测试结果，发现单一化疗药物无论是奥沙利铂，还是伊立替康、紫杉醇、5-氟尿嘧啶等对肿瘤细胞大部分不敏感，然而前面 3 种化疗药物分别与 5-氟尿嘧啶进行联合用药后对胃癌肿瘤细胞药物敏感性大大增加，这一结果与临床上对胃癌术后患者推荐的辅助治疗方案是高度符合的。

本研究结果显示个体化治疗组 mDFS 为 7.20 个月，高于对照组 6.04 个月 ($P < 0.05$)；进一步分析发现对照组中 9 例患者复发，个体化治疗组 3 例患者复发；对照组 2 例患者死亡，个体化治疗组无死亡病例，虽然病死率无统计学差异，但随着随访时间延长，也可能出现阳性结果。因此，胃癌 3DP 模型是一种能够真实模拟体内肿瘤微环境的体外肿瘤模型，更是实现患者个体化精准治疗的有力工具，可在短时间为患者提供最优治疗方案，达到“替身试药”的目的。

利益冲突 所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明 屠洋洋：实验操作、论文撰写；刘东良、黄钟庭、张智勇：数据收集及统计；裘丰：研究指导；钱海龙：经费支持

参 考 文 献

[1] Global Burden of Disease Cancer Collaboration, FITZMAURICE C, DICKER D, et al. The global burden of cancer 2013[J]. *JAMA Oncol*, 2015, 1(4): 505-527.

[2] APARICIO S, HIDALGO M, KUNG A L. Examining the utility of patient-derived xenograft mouse models[J]. *Nat Rev Cancer*, 2015, 15(5): 311-316.

[3] CHEUNG P F Y, YIP C W, NG L W C, et al. Comprehensive characterization of the patient-derived xenograft and the paralleled primary hepatocellular carcinoma cell line[J]. *Cancer Cell Int*, 2016, 16: 41.

[4] WEEBER F, OOF T S N, DIJKSTRA K K, et al. Tumor organoids as a pre-clinical cancer model for drug discovery[J]. *Cell Chem Biol*, 2017, 24(9): 1092-1100.

[5] TUVESON D, CLEVERS H. Cancer modeling meets human organoid technology[J]. *Science*, 2019, 364(6444): 952-955.

[6] ABOULKHEYR ESH, MONTAZERIL, AREF A R, et al. Personalized cancer medicine: An organoid approach[J]. *Trends Biotechnol*, 2018, 36(4): 358-371.

[7] QU J J, KALYANI F S, LIU L, et al. Tumor organoids: Synergistic applications, current challenges, and future prospects in cancer therapy[J]. *Cancer Commun (Lond)*, 2021, 41(12): 1331-1353.

[8] YANG L, YANG S, LI X Y, et al. Tumor organoids: From inception to future in cancer research[J]. *Cancer Lett*, 2019, 454: 120-133.

[9] KNOWLTON S, ONAL S, YU C H, et al. Bioprinting for cancer research[J]. *Trends Biotechnol*, 2015, 33(9): 504-513.

[10] TIWARI A P, THORAT N D, PRICL S, et al. Bioink: A 3D-bioprinting tool for anticancer drug discovery and cancer management[J]. *Drug Discov Today*, 2021, 26(7): 1574-1590.

[11] PENG W J, DATTA P, AYAN B, et al. 3D bioprinting for drug discovery and development in pharmaceuticals[J]. *Acta Biomater*, 2017, 57: 26-46.

[12] BRANCATO V, OLIVEIRA J M, CORRELO V M, et al. Could 3D models of cancer enhance drug screening?[J]. *Biomaterials*, 2020, 232: 119744.

[13] MANDRYCKY C, WANG Z J, KIM K, et al. 3D bioprinting for engineering complex tissues[J]. *Biotechnol Adv*, 2016, 34(4): 422-434.

[14] LIAW C Y, JI S, GUVENDIREN M. Engineering 3D hydrogels for personalized in vitro human tissue models[J/OL]. [2024-11-5]. *Adv Healthc Mater*, 2018. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29345429/>.

[15] MURPHY S V, ATALA A. 3D bioprinting of tissues and organs[J]. *Nat Biotechnol*, 2014, 32(8): 773-785.

[16] YANG H Y, SUN L J, PANG Y, et al. Three-dimensional bioprinted hepatorganoids prolong survival of mice with liver failure[J]. *Gut*, 2021, 70(3): 567-574.

[17] SUN L J, YANG H Y, WANG Y N, et al. Application of a 3D bioprinted hepatocellular carcinoma cell model in antitumor drug research[J]. *Front Oncol*, 2020, 10: 878.

[18] MAO S S, HE J Y, ZHAO Y, et al. Bioprinting of patient-derived in vitro intrahepatic cholangiocarcinoma tumor model: Establishment, evaluation and anti-cancer drug testing[J]. *Biofabrication*, 2020, 12(4): 45014.

[19] XIE F H, SUN L J, PANG Y, et al. Three-dimensional bio-printing of primary human hepatocellular carcinoma for personalized medicine[J]. *Biomaterials*, 2021, 265: 120416.

[20] SUN H, SUN L, KE X, et al. Prediction of clinical precision chemotherapy by patient-derived 3D bioprinting models of colorectal cancer and its liver metastases[J]. *Adv Sci (Weinh)*, 2024, 11(2): e2304460.

[21] JURASKI A C, SHARMA S, SPARANESSE S, et al. 3D bioprinting for organ and organoid models and disease modeling[J]. *Expert Opin Drug Discov*, 2023, 18(9): 1043-1059.

收稿日期: 2025-01-27

(本文编辑: 吴迪汉)