

DOI: 10.16781/j.0258-879x.2021.10.1098

· 论 著 ·

## 循环肿瘤细胞药物敏感性指导的化学治疗在晚期胆系肿瘤中的临床疗效

寇晓霞, 郭玲玲, 仇金荣\*

海军军医大学(第二军医大学)东方肝胆外科医院肿瘤生物治疗科, 上海 201805

**[摘要]** **目的** 观察循环肿瘤细胞(CTC)药物敏感性指导的化学治疗在晚期胆系肿瘤中的临床疗效和安全性。**方法** 收集2018年7月至2020年4月海军军医大学(第二军医大学)东方肝胆外科医院肿瘤生物治疗科收治的26例晚期胆系肿瘤患者,抽取患者外周血分离和富集CTC,用胆系肿瘤中常用的固定化学治疗方案进行药物敏感性检测,选取最佳方案对患者进行化学治疗(CTC组)。选择同期19例行GEMOX方案(吉西他滨+奥沙利铂)化学治疗的晚期胆系肿瘤患者作为对照(GEMOX组)。观察两组患者化学治疗后的客观缓解率(ORR)、疾病控制率(DCR)、无进展生存期(PFS)、总生存期(OS)及安全性。**结果** 所有患者均可评价疗效与安全性,CTC组完全缓解1例,部分缓解4例,疾病稳定12例,疾病进展9例;GEMOX组部分缓解1例,疾病稳定10例,疾病进展8例。CTC组和GEMOX组患者的ORR分别为19.2%(5/26)和5.3%(1/19),DCR分别为65.4%(17/26)和57.9%(11/19)。CTC组患者的中位PFS为5.8个月(95%CI 4.5~7.2个月),GEMOX组为5.1个月(95%CI 4.6~6.4个月),差异无统计学意义( $P=0.313$ )。CTC组患者的中位OS为13.6个月(95%CI 10.8~16.3个月),GEMOX组为7.9个月(95%CI 5.5~10.3个月),差异有统计学意义( $P=0.003$ )。所有患者中,主要不良反应有贫血、中性粒细胞减少、血小板减少、乏力及厌食,均可耐受,且无治疗相关性死亡。**结论** CTC药物敏感性指导的化学治疗提高了晚期胆系肿瘤反应率,延长了患者总生存期,且不良反应可耐受。CTC药物敏感性检测可操作性强,对临床准确选择个体化化学治疗方案有一定的指导价值,值得进一步推广。

**[关键词]** 循环肿瘤细胞;抗肿瘤药物筛选试验;胆道肿瘤;化学治疗**[中图分类号]** R 735.8 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2021)10-1098-09

### Circulating tumor cell drug sensitivity-guided chemotherapy for advanced biliary tract cancer: a clinical efficacy analysis

KOU Xiao-xia, GUO Ling-ling, QIU Jin-rong\*

Department of Oncology Biotherapy, Eastern Hepatobiliary Surgery Hospital, Naval Medical University (Second Military Medical University), Shanghai 201805, China

**[Abstract]** **Objective** To observe the clinical efficacy and safety of circulating tumor cell (CTC) drug sensitivity-guided chemotherapy in the treatment of advanced biliary tract cancer. **Methods** Twenty-six patients with advanced biliary tract cancer treated in the Department of Oncology Biotherapy, Eastern Hepatobiliary Surgery Hospital, Naval Medical University (Second Military Medical University) from Jul. 2018 to Apr. 2020 were included. The CTCs were isolated and enriched from the peripheral blood. The drug sensitivity was tested with the fixed chemotherapy regimen commonly used in biliary tract cancer, and the best regimen was selected for chemotherapy (CTC group). Nineteen patients with advanced biliary tract cancer treated with GEMOX regimen (gemcitabine+oxaliplatin) during the same period were selected as the controls (GEMOX group). The objective response rate (ORR), disease control rate (DCR), progress-free survival (PFS), overall survival (OS) and safety of the 2 groups were observed. **Results** The efficacy and safety were evaluated in all the patients: 1 case achieved complete remission (CR), 4 cases achieved partial remission (PR), 12 cases had stable disease (SD) and 9 cases had progressive disease (PD) in the CTC group; and 1 case reached PR, 10 cases had SD and 8 cases had PD in the GEMOX group. The ORRs of the CTC group and GEMOX group were 19.2% (5/26) and 5.3% (1/19), and the DCRs were 65.4% (17/26) and 57.9% (11/19), respectively. The median PFS was 5.8 months (95% confidence interval [CI] 4.5-7.2 months) in the CTC group and 5.1 months (95% CI 4.6-6.4 months) in the GEMOX group, showing no significant difference ( $P=0.313$ ). The median OS was 13.6 months (95% CI 10.8-16.3 months) in the CTC group and 7.9 months (95% CI 5.5-10.3 months) in the GEMOX group, showing significant difference ( $P=0.003$ ). In all patients, the main adverse events were anemia, neutropenia, thrombocytopenia, fatigue and anorexia, all of which were tolerable, and there was no treatment-related death.

[收稿日期] 2021-03-24

[接受日期] 2021-08-24

[作者简介] 寇晓霞, 硕士, 主治医师. E-mail: 18017659039@163.com

\*通信作者( Corresponding author ). Tel: 021-81887482, E-mail: jrqi@njmu.edu.cn

**Conclusion** CTC drug sensitivity-guided chemotherapy improves the tumor response rate of advanced biliary cancers, prolongs the overall survival of the patients, and the adverse events are tolerable. CTC drug sensitivity test is convenient, and is valuable for accurate clinical selection of individualized chemotherapy regimens, so it is worthy of further promotion.

[ **Key words** ] circulating neoplastic cells; antitumor drug screening assays; biliary tract neoplasms; chemotherapy

[ Acad J Sec Mil Med Univ, 2021, 42(10): 1098-1106 ]

胆系肿瘤 (biliary tract cancer) 包括胆囊癌和胆管癌, 占消化道肿瘤的 3%<sup>[1]</sup>。近 40 年来, 胆系肿瘤发病率呈逐年增高的趋势<sup>[2-3]</sup>。据 2017 年数据统计, 全球胆系肿瘤的发病率为 21.1%, 死亡率为 17.4%<sup>[4]</sup>。胆系肿瘤的恶性程度非常高, 预后很差, 5 年生存率仅为 5%~15%<sup>[5]</sup>。目前手术切除仍是胆系肿瘤潜在治愈的主要手段, 但有近 2/3 的患者发现时已属晚期, 并无手术机会, 且即使是根治性手术后的患者, 也有 68%~86% 最终将出现复发或远处转移<sup>[6]</sup>。化学治疗是晚期胆系肿瘤的主要治疗方法。自 ABC-02 研究报道以来, GC 方案 (吉西他滨+顺铂) 作为晚期胆系肿瘤一线化学治疗方案的地位不可撼动, 但即使如此, 患者的中位生存期也仅有 11.7 个月<sup>[7]</sup>。GEMOX 方案 (吉西他滨+奥沙利铂) 在指南及各项研究中也是常用的标准方案之一。如何提高胆系肿瘤的化疗敏感性以选择更加适合的化疗方案仍是目前的热点问题。循环肿瘤细胞 (circulating tumor cell, CTC) 是原发或转移肿瘤组织脱落入循环系统的肿瘤细胞, 能够实时反映肿瘤细胞在体内的情况<sup>[8]</sup>。本研究采用回顾性研究方法, 观察和评估晚期胆系肿瘤患者根据 CTC 药物敏感性选择最佳化疗方案进行个体化治疗的疗效及安全性。

## 1 资料和方法

1.1 研究对象 选择 2018 年 7 月至 2020 年 4 月海军军医大学 (第二军医大学) 东方肝胆外科医院肿瘤生物治疗科收治的 26 例在 CTC 药物敏感性指导下进行化疗的晚期胆系肿瘤患者 (CTC 组), 选择同期 19 例行 GEMOX 方案化疗的晚期胆系肿瘤患者作为对照 (GEMOX 组)。所有患者均根据手术或肝穿刺活检病理明确诊断, 且病历资料完整。纳入标准: (1) 年龄为 18~80 岁。(2) 美国东部肿瘤协作组 (Eastern Cooperative Oncology Group, ECOG) 评分≤2 分。

(3) 经组织病理学明确诊断为胆系肿瘤, 包括胆囊癌和胆管癌, 不包括壶腹癌。(4) 有明确的可测量病灶。(5) 无远处转移的局部晚期患者经多学科会诊评估为不可切除。(6) 基线血常规和生物化学指标符合以下条件: 中性粒细胞计数 $\geq 1.5 \times 10^9/L$ , 血红蛋白 $\geq 90 g/L$ , 血小板计数 $\geq 75 \times 10^9/L$ , 血清总胆红素 $\leq$ 正常参考值上限的 1.5 倍, 丙氨酸转氨酶、天冬氨酸转氨酶均 $\leq$ 正常参考值上限的 2.5 倍, 血肌酐 $\leq$ 正常参考值上限的 1.5 倍。(7) 心功能正常。排除标准: (1) 合并其他恶性肿瘤; (2) 妊娠期或哺乳期妇女; (3) 既往有 1 种或多种药物严重过敏者; (4) 伴有严重感染需要治疗者; (5) 伴有活动性出血或肠梗阻者; (6) 患有严重肝病、肾病、呼吸道疾病或不能控制的糖尿病、高血压、冠心病等慢性疾病。

1.2 CTC 药物敏感性检测试剂及仪器 (1) 试剂: 红细胞裂解液 (美国 ThermoFisher Scientific 公司, 货号 00-4300); 含葡萄糖 RPMI 1640 培养基 (美国 ThermoFisher Scientific 公司, 货号 11875119); 不含葡萄糖 RPMI 1640 培养基 (美国 ThermoFisher Scientific 公司, 货号 11879020); FBS (美国 ThermoFisher Scientific 公司, 货号 10099141); CD45 抗体 (美国 Cell Signaling Technology 公司, 货号 32125); 2-[N-(7-硝基苯-2-氧杂-1,3-二唑-4-氨基)-2-脱氧葡萄糖 (2-[N-(7-nitrobenz-2-oxa-1,3-diazol-4-yl)amino]-2-deoxyglucose, 2-NBDG) (美国 ThermoFisher Scientific 公司, 货号 N3195); Hoechst 33342 (北京索莱宝科技有限公司, 货号 C00300); BackDrop<sup>®</sup> 背景抑制剂 (美国 ThermoFisher Scientific 公司, 货号 B10512)。

(2) 耗材与仪器: 384 孔板 (美国 ThermoFisher Scientific 公司, 货号 142761); FlowCell<sup>™</sup> 细胞分选仪 (泰州宸安生物科技有限公司); Invitrogen<sup>™</sup> EVOS<sup>™</sup> FL M7000 成像系统 (美国 ThermoFisher Scientific 公司, 货号 M7000)。

1.3 CTC药物敏感性检测方法 (1) CTC的分离与富集:抽取肿瘤患者外周血30 mL置于EDTA抗凝管中,低温运输至实验室进行检测。将血液样本转移至50 mL离心管中,800×g离心10 min,弃血浆。加入相应体积的红细胞裂解液,裂解10~15 min,500×g离心10 min,弃上清。用杜氏磷酸盐缓冲溶液(Dulbecco's phosphate-buffered saline, DPBS)洗2次后,用含葡萄糖RPMI 1640培养基重悬细胞,制备单细胞悬液。利用FlowCell™细胞分选仪进行CTC的分离和富集(根据患者肿瘤的恶性程度和转移能力不同,大约富集到100~400个)。

(2) 基于CTC的化学治疗药物敏感性检测:将分离、富集后的细胞混合液以500×g离心10 min,弃上清,用含10% FBS的含葡萄糖RPMI 1640培养基重悬后进行计数,调整细胞密度、混合均匀后接种至384孔板,每孔10 000个细胞。每个化学治疗方案组合设低(0.1×IC<sub>50</sub>)、中(IC<sub>50</sub>)、高(10×IC<sub>50</sub>)3个浓度,重复3个孔,同时设不加药的对照孔,置于37℃、5% CO<sub>2</sub>培养箱中培养24 h后取出,300×g离心5 min,弃上清。用DPBS洗2次,更换含CD45抗体的不含葡萄糖RPMI 1640培养基孵育50 min,加入0.4 mmol/L 2-NBDG和0.5 μg/mL Hoechst 33342染色液,继续孵育10 min后置于冰上,用预冷的DPBS洗2次,加入BackDrop®背景抑制剂。最后使用Invitrogen™ EVOS™ FL M7000成像系统对每个孔进行拍照,得到每个细胞的荧光图像。利用基于神经网络的算法对高通量的荧光图像进行细胞形态学分析、CD45表达分析和细胞糖代谢分析,从而区分CTC和白细胞,并分析CTC的活性。通过将加药孔中CTC的平均糖代谢水平(荧光强度)和对照孔中CTC的平均糖代谢水平(荧光强度)进行比较,得出不同化学治疗方案在不同浓度下对CTC的活性抑制率,即肿瘤细胞对不同药物的敏感性。

(3) 化学治疗方案的选择:GC方案(吉西他滨+顺铂);SOX方案(替吉奥+奥沙利铂);GX方案(吉西他滨+卡培他滨);AG方案(白蛋白结合型紫杉醇+吉西他滨);FOLFOX方案(奥沙利铂+亚叶酸钙+氟尿嘧啶);FOLFIRI方案(伊立替康+亚叶酸钙+氟尿嘧啶)。

(4) 检测结果计算:敏感度 =  $\{100 - [1 -$

$(GMR1+GMR2+GMR3)/3] \times 100\} / 50$ ,其中GMR1、GMR2、GMR3分别表示各化学治疗方案低、中、高3种浓度下CTC的相对葡萄糖摄取率[加药孔中CTC的平均糖代谢水平(荧光强度)与不加药孔中CTC的平均糖代谢水平(荧光强度)的比值]。根据计算结果将CTC对化学治疗方案的敏感度分为4个等级:高度敏感(<0.80)、中度敏感(0.80~0.99)、轻度敏感(1.00~1.20)和耐受(>1.20)。根据该敏感度等级选择最佳化学治疗方案。

1.4 化学治疗药物 吉西他滨(法国礼来有限公司,商品名健择,进口药品注册证号H20160225);顺铂(齐鲁制药有限公司,国药准字H20073652,规格10 mg);奥沙利铂(法国赛诺菲制药有限公司,商品名乐沙定,进口药品注册证号H20171064,规格50 mg);注射用紫杉醇(白蛋白结合型)(江苏恒瑞医药股份有限公司,商品名艾越,国药准字H20183378,规格100 mg);替吉奥(江苏恒瑞医药股份有限公司,商品名艾奕,国药准字H20100135,规格20 mg);卡培他滨(上海罗氏制药有限公司,商品名希罗达,国药准字H20073024,规格500 mg);氟尿嘧啶(上海旭东海普药业有限公司,国药准字H31020593,规格250 mg);亚叶酸钙(江苏奥赛康药业有限公司,国药准字H20060197,规格100 mg);伊立替康(美国辉瑞公司,商品名开普拓,进口药品注册证号H20160577,规格100 mg)。

1.5 化学治疗方案 CTC组化学治疗方案:所有患者均根据CTC药物敏感性检测结果选择最佳化学治疗方案进行一线、二线或三线化学治疗。

(1) GC方案:吉西他滨1 000 mg/m<sup>2</sup>于第1、第8天静脉滴注,顺铂25 mg/m<sup>2</sup>于第1、第8天静脉滴注;每21 d为1个周期。(2) SOX方案:替吉奥按照体表面积<1.25 m<sup>2</sup>每次40 mg、1.25~<1.5 m<sup>2</sup>每次50 mg、≥1.5 m<sup>2</sup>每次60 mg的剂量于第1~14天每天2次口服,奥沙利铂135 mg/m<sup>2</sup>于第1天静脉滴注;每21 d为1个周期。(3) GX方案:吉西他滨1 000 mg/m<sup>2</sup>于第1、第8天静脉滴注,卡培他滨1 000 mg/m<sup>2</sup>于第1~14天每天2次口服;每21 d为1个周期。(4) AG方案:吉西他滨1 000 mg/m<sup>2</sup>于第1、第8天静脉滴注,白蛋白结合型紫杉醇125 mg/m<sup>2</sup>于第1、第8天静脉滴

注; 每 21 d 为 1 个周期。(5) FOLFOX 方案: 奥沙利铂  $85 \text{ mg/m}^2$  于第 1 天静脉滴注, 亚叶酸钙  $400 \text{ mg/m}^2$  于第 1 天静脉滴注, 氟尿嘧啶  $400 \text{ mg/m}^2$  于第 1 天静脉推注, 氟尿嘧啶  $1200 \text{ mg/m}^2$  于第 1~2 天用化学治疗泵维持 22 h; 每 14 d 为 1 个周期。(6) FOLFIRI 方案: 伊立替康  $180 \text{ mg/m}^2$  于第 1 天静脉滴注, 亚叶酸钙  $400 \text{ mg/m}^2$  于第 1 天静脉滴注, 氟尿嘧啶  $400 \text{ mg/m}^2$  于第 1 天静脉推注, 氟尿嘧啶  $1200 \text{ mg/m}^2$  于第 1~2 天用化学治疗泵维持 22 h; 每 14 d 为 1 个周期。

GEMOX 组化疗方案: 所有患者均为一线化疗, 具体方案为吉西他滨  $1000 \text{ mg/m}^2$  于第 1、第 8 天静脉滴注, 奥沙利铂  $125 \text{ mg/m}^2$  于第 1 天静脉滴注, 每 21 d 为 1 个周期。

所有患者化疗前均常规予 5-羟色胺 3 受体拮抗剂预防性止吐治疗。如出现 3 级以上血液学或非血液学不良反应, 则在下一治疗周期将药物剂量减少 20%~25%。所有患者至少化疗 2 个周期, 如未发生疾病进展或不可耐受的不良反应, 则继续用药至 6~10 个周期。

1.6 观察指标及疗效评价 所有患者在治疗前、后均进行血清肿瘤标志物、心电图、胸部 CT 和腹部增强 CT 或 MRI 检查, 每周复查血常规、肝肾功能。每 2 个周期化疗后按照实体肿瘤疗效评价标准 (response evaluation criteria in solid tumors, RECIST) 1.1 评价近期疗效, 分为完全缓解、部分缓解、疾病稳定和疾病进展; 计算客观缓解率 (objective response rate, ORR) 和疾病控制率 (disease control rate, DCR):  $\text{ORR} = \text{完全缓解率} + \text{部分缓解率}$ ,  $\text{DCR} = \text{完全缓解率} + \text{部分缓解率} + \text{疾病稳定率}$ 。无进展生存期 (progress-free survival, PFS) 是指从接受化疗开始至肿瘤进展的时间, 总生存期 (overall survival, OS) 是指从接受化疗开始至患者死亡、失访或末次随访的时间。随访采用来院复查或电话等方式, 随访截至 2021 年 1 月 31 日。按照美国国立癌症研究所通用毒性标准 (National Cancer Institute-common toxicity criteria, NCI-CTC) 4.0 评价不良反应, 分为 0~4 级。主要观察指标为 ORR、DCR、PFS 及 OS, 次要观察指标为安全性。

1.7 统计学处理 采用 SPSS 23.0 软件进行数据处

理。计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示, 两组间比较采用独立样本  $t$  检验; 计数资料以例数和百分数表示, 两组间比较采用  $\chi^2$  检验或 Fisher 确切概率法。采用 Kaplan-Meier 法进行生存分析并绘制生存曲线, 生存时间的比较采用 log-rank 检验。检验水准 ( $\alpha$ ) 为 0.05。

## 2 结果

2.1 患者一般资料 CTC 药物敏感性指导的化疗组 (CTC 组) 共有 26 例患者, 男 19 例、女 7 例, 年龄为 36~76 岁, 平均年龄为 ( $55 \pm 11$ ) 岁, 接受 GC 方案 8 例 (30.8%)、SOX 方案 8 例 (30.8%)、GX 方案 3 例 (11.5%)、AG 方案 2 例 (7.7%)、FOLFOX 方案 3 例 (11.5%)、FOLFIRI 方案 2 例 (7.7%); GEMOX 方案化疗组 (GEMOX 组) 共 19 例患者, 男 12 例、女 7 例, 年龄为 40~70 岁, 平均年龄为 ( $51 \pm 8$ ) 岁。两组患者的一般状况、肿瘤分期及远处转移情况均相似, 具有可比性 (表 1)。

2.2 客观疗效评价 所有患者共完成 192 个周期的化疗。CTC 组共 111 个周期, 平均 4.3 个周期; GEMOX 组 81 个周期, 平均 4.3 个周期。所有患者均完成不少于 2 个周期的化疗, 全组均可评价疗效。CTC 组完全缓解 1 例 (GC 方案), 部分缓解 4 例 (GC 方案 1 例、SOX 方案 1 例、GX 方案 1 例、AG 方案 1 例), 疾病稳定 12 例 (GC 方案 4 例、SOX 方案 3 例、GX 方案 1 例、AG 方案 1 例、FOLFOX 方案 3 例), 疾病进展 9 例 (GC 方案 2 例、SOX 方案 4 例、GX 方案 1 例、FOLFIRI 方案 2 例); GEMOX 组部分缓解 1 例, 疾病稳定 10 例, 疾病进展 8 例。CTC 组和 GEMOX 组的 ORR 分别为 19.2% (5/26) 和 5.3% (1/19), DCR 分别为 65.4% (17/26) 和 57.9% (11/19)。

2.3 生存分析 CTC 组患者的中位 PFS 为 5.8 个月 (95% CI 4.5~7.2 个月), GEMOX 组为 5.1 个月 (95% CI 4.6~6.4 个月), 两组 PFS 比较差异无统计学意义 ( $P=0.313$ )。截至 2021 年 1 月 31 日, CTC 组死亡 20 例、存活 6 例; GEMOX 组 18 例死亡、1 例失访。CTC 组患者的中位 OS 为 13.6 个月 (95% CI 10.8~16.3 个月), GEMOX 组为 7.9 个月 (95% CI 5.5~10.3 个月), 两组 OS 比较差异有统计学意义 ( $P=0.003$ )。见图 1。

表1 两组胆系肿瘤患者的一般资料比较

Tab 1 Comparison of general data of biliary tract cancer patients between 2 groups

Characteristic	CTC group N=26	GEMOX group N=19	Statistic	P value
Age/year, $\bar{x} \pm s$	55 ± 11	51 ± 8	$t=1.185$	0.243
Gender, n (%)			$\chi^2=0.504$	0.478
Male	19 (73.1)	12 (63.2)		
Female	7 (26.9)	7 (36.8)		
ECOG score, n (%)			$\chi^2=0.758$	0.685
0	6 (23.1)	4 (21.1)		
1	17 (65.4)	11 (57.9)		
2	3 (11.5)	4 (21.1)		
Primary tumor site, n (%)			$\chi^2=3.250$	0.197
Intrahepatic	18 (69.2)	16 (84.2)		
Extrahepatic	4 (15.4)	3 (15.8)		
Gallbladder	4 (15.4)	0		
Stage, n (%)			$\chi^2=0.026$	0.872
Locally advanced	6 (23.1)	4 (21.1)		
Metastatic	20 (76.9)	15 (78.9)		
Metastatic site, n (%)				
Distant lymph node	20 (76.9)	12 (63.2)	$\chi^2=1.013$	0.314
Lung	8 (30.8)	2 (10.5)	Fisher exact test	0.154
Bone	3 (11.5)	6 (31.6)	Fisher exact test	0.137
Adrenal gland	2 (7.7)	2 (10.5)	Fisher exact test	1.000
Abdominal cavity	6 (23.1)	5 (26.3)	Fisher exact test	1.000
TNM stage <sup>a</sup> , n (%)			$\chi^2=0.023$	0.880
III	5 (19.2)	4 (21.1)		
IV	21 (80.8)	15 (78.9)		
Operation, n (%)			$\chi^2=0.729$	0.393
Without operation	16 (61.5)	14 (73.7)		
Postoperative recurrence	10 (38.5)	5 (26.3)		
Complicating disease, n (%)				
Hepatitis B	4 (15.4)	5 (26.3)	$\chi^2=0.820$	0.365
Liver cirrhosis	2 (7.7)	2 (10.5)	Fisher exact test	1.000

CTC group: CTC drug sensitivity-guided chemotherapy group; GEMOX group: GEMOX regimen (gemcitabine+oxaliplatin) chemotherapy group. <sup>a</sup>: TNM stage is based on the American Joint Committee on Cancer (AJCC) 7<sup>th</sup> edition TNM staging standard for cholangiocarcinoma. CTC: Circulating tumor cell; ECOG: Eastern Cooperative Oncology Group.

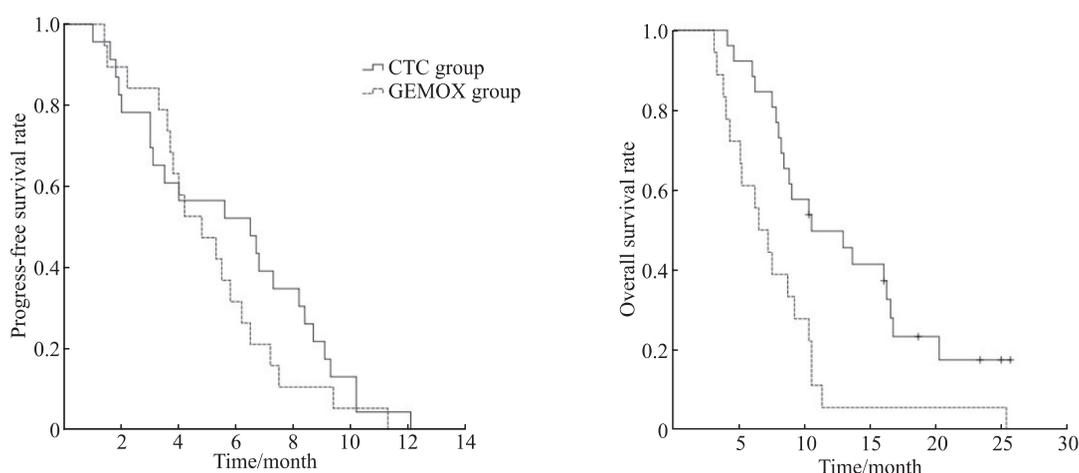


图1 两组胆系肿瘤患者的 Kaplan-Meier 生存曲线

Fig 1 Kaplan-Meier survival curves of biliary tract cancer patients in 2 groups

CTC group: CTC drug sensitivity-guided chemotherapy group; GEMOX group: GEMOX regimen (gemcitabine+oxaliplatin) chemotherapy group. CTC: Circulating tumor cell.

2.4 不良反应 所有患者中,主要的不良反应有贫血、中性粒细胞减少、血小板减少、乏力及厌食等,均可耐受,且无治疗相关性死亡。CTC组中,GC方案治疗的患者出现4级贫血1例、3级贫血2例、4级中性粒细胞减少3例、4级血小板减少2例。其中1例患者仅进行1个周期化学治疗后即发生4级中性粒细胞减少和4级血小板减少,经过升白细胞、升血小板治疗后逐渐恢复,后续改为吉西他滨单药化学治疗;另1例发生4级血小板减少的患者合并慢性乙型肝炎肝硬化。采用SOX方案治疗的患者中有1例发生4级中性粒细胞减少和4级血小板减

少,为合并血吸虫性肝硬化者。采用GX方案治疗的患者中有1例出现3级贫血,1例服用卡培他滨后发生手足综合征,经外涂药膏后好转。采用AG方案治疗的患者中有1例出现3级贫血。FOLFOX方案和FOLFIRI方案均未见3级以上血液学不良反应。GEMOX组中,1例患者发生奥沙利铂严重过敏,经抗过敏治疗后好转;4例发生4级中性粒细胞缺乏,其中2例出现1~2级中性粒细胞缺乏性发热;5例发生4级血小板减少;2例发生外周神经毒性反应。两组患者各不良反应的总体发生率差异均无统计学意义( $P$ 均 $>0.05$ )。见表2。

表2 两组胆系肿瘤患者化疗相关不良反应发生情况

Tab 2 Chemotherapy-related adverse events of biliary tract cancer patients in 2 groups

Adverse event	CTC group $N=26$		GEMOX group $N=19$		Statistic <sup>a</sup>	$P$ value <sup>a</sup>
	Overall	Grade 3-4	Overall	Grade 3-4		
Hematological						
Anemia	7 (26.9)	5 (19.2)	8 (42.1)	5 (26.3)	$\chi^2=1.139$	0.286
Neutropenia	8 (30.8)	4 (15.4)	7 (36.8)	4 (21.1)	$\chi^2=0.182$	0.670
Febrile neutropenia	0	0	2 (10.5)	0	Fisher exact test	0.173
Thrombocytopenia	5 (19.2)	3 (11.5)	7 (36.8)	5 (26.3)	$\chi^2=1.741$	0.187
Nonhematological						
Fatigue	17 (65.4)	2 (7.7)	16 (84.2)	3 (15.8)	$\chi^2=1.990$	0.158
Anorexia	18 (69.2)	2 (7.7)	15 (78.9)	2 (10.5)	$\chi^2=0.530$	0.467
Vomiting	5 (19.2)	1 (3.8)	6 (31.6)	1 (5.3)	Fisher exact test	0.485
Diarrhea	1 (3.8)	0	1 (5.3)	0	Fisher exact test	1.000
Sensory neuropathy	2 (7.7)	0	2 (10.5)	0	Fisher exact test	1.000
Hand-foot syndrome	1 (3.8)	0	0	0	Fisher exact test	1.000
Allergy	0	0	1 (5.3)	1 (5.3)	Fisher exact test	0.422

CTC group: CTC drug sensitivity-guided chemotherapy group; GEMOX group: GEMOX regimen (gemcitabine+oxaliplatin) chemotherapy group. <sup>a</sup>: Comparison of overall adverse event incidence between CTC group and GEMOX group. CTC: Circulating tumor cell.

### 3 讨论

胆系肿瘤的发病原因非常复杂,可能与细菌感染及HBV感染有一定关系<sup>[9-10]</sup>。其发病率逐年增高,始终未能得到有效控制,治疗非常棘手,尤其对于无法手术治疗或术后复发、转移的晚期患者来说,如何采取有效的治疗方法延长生存期仍然是目前的一大难题。无论是美国国立综合癌症网络指南还是中国临床肿瘤学会指南中,化学治疗都是一线推荐。

胆系肿瘤的化疗分为两大类,一类是以吉西他滨为主的方案,本研究中使用的有GC方案、GEMOX方案、AG方案及GX方案。GC方案作为

一线标准化学治疗方案,近10年来其研究数据非常多,但到目前为止,规模最大且唯一获得阳性结果的只有ABC-02研究<sup>[7]</sup>。此后,2012年1月,Roth和Carlson<sup>[11]</sup>报道了GC方案的费用-效益比分析结果,从卫生经济学角度阐述了GC方案的优势,进一步支持GC方案作为一线标准化学治疗的地位。但该方案所引起的骨髓抑制等不良反应较严重,对于乙型肝炎发病率高、可能合并肝硬化基础的中国患者来说,很难坚持足量、足疗程的化学治疗,且该方案治疗后患者的中位生存期也不足1年,并不能令人满意。GEMOX方案较GC方案的不良反应轻,患者耐受性更好<sup>[12]</sup>,但其PFS(4.2个月 vs 8.0个月)及OS(9.5个月 vs 11.7个月)

却不及GC方案<sup>[13,7]</sup>,本研究中对照组(GEMOX组)的中位PFS为5.1个月,中位OS为7.9个月,与文献报道相似。Shroff等<sup>[14]</sup>报道的GAC方案(吉西他滨+白蛋白结合型紫杉醇+顺铂)虽然ORR达到了45%,但三药联合在增加疗效的同时,也带来较严重的不良反应,3级以上不良反应的发生率高达58%,导致大部分患者因无法耐受而需要减量,因此该方案并非胆系肿瘤患者化学治疗的首选。AG方案被作为胰腺癌的一线化学治疗方案<sup>[15]</sup>,鉴于胆道和胰腺有相同的组织胚胎学来源,近年来该方案在胆系肿瘤化学治疗中也越来越受到关注。本研究中,根据药物敏感性检测结果,有2例患者选择了AG方案进行化学治疗,其中1例达到部分缓解、1例疾病稳定,疗效较好,证明了AG方案在胆系肿瘤化学治疗中的可行性。卡培他滨是新一代氟尿嘧啶类药物,它是一种口服的选择性肿瘤内活化的氟尿嘧啶氨甲酸酯,可以模拟持续氟尿嘧啶滴注的药代动力学作用,通过肿瘤组织中高活性的胸腺嘧啶磷酸化酶转化成氟尿嘧啶而发挥抗肿瘤作用。独特的肿瘤内酶激活机制使卡培他滨具有高度靶向性,不仅提高了疗效,同时减少了不良反应。自BILCAP研究<sup>[16]</sup>报道后,卡培他滨已被列为胆系肿瘤术后辅助化学治疗的标准方案<sup>[17]</sup>。Santini等<sup>[18]</sup>报道了GX方案在胆系肿瘤中的疗效,ORR为26.7%,DCR为66.7%。本研究中采用GX方案进行化学治疗的患者共有3例,其中1例达到了部分缓解、1例疾病稳定,虽然例数较少,但疗效也是令人满意的。

另一类是以氟尿嘧啶为主的方案,本研究中用到的有SOX方案、FOLFOX方案和FOLFIRI方案。替吉奥是目前比较常用的一种氟尿嘧啶类口服药物,因SOX方案较GC方案有更好的治疗便利性和更少的不良反应,近年来在胆系肿瘤中的应用也比较广泛, Kim等<sup>[19]</sup>报道该方案的ORR为24.5%,DCR为59.2%。本研究中通过CTC药物敏感性选择SOX方案进行化学治疗的患者共有8例,其中1例达到了部分缓解、3例疾病稳定,疗效与文献报道相似,虽有1例患者出现4级中性粒细胞减少和4级血小板减少,但考虑可能与该患者合并血吸虫性肝硬化有关,除此之外,再无其他3级以上血液学不良反应。总体来说,采用SOX方案进行化学治疗的患者不良反应发生率较GC方案低,说明

该方案也是胆系肿瘤治疗中一种很有前景的化学治疗方案。FOLFOX方案自2019年美国临床肿瘤学会ABC-06研究<sup>[20]</sup>报道以来,也受到越来越多的关注和临床应用,虽然在胆系肿瘤中ORR、DCR并不高,但考虑可能与该研究入组的都是GC方案化学治疗后进展的二线化学治疗患者有关。本研究中有3例患者选择FOLFOX方案,都获得了疾病稳定,且未出现3级以上血液学不良反应,也是获益的。FOLFIRI方案在Mizrahi等<sup>[21]</sup>的研究中疗效并不是很理想,本研究中通过CTC药物敏感性检测筛选后有2例患者选择该方案,结果均为疾病进展,也再一次印证了FOLFIRI方案在胆系肿瘤治疗中并不具有优势。

CTC最早由Ashworth<sup>[22]</sup>在1969年报道,1998年首次从血液中分离并被证实与病理分期相关<sup>[23]</sup>。此后,CTC逐渐被应用于临床,被认为是肿瘤发生、发展的直接证据,真实反映了肿瘤负荷和特征,并可以提示疗效及预后。随着分离、提取和富集技术的不断发展,近年来针对CTC的研究层出不穷。2015年已有学者报道了将循环乳腺癌细胞体外培养技术应用用于药物敏感性的个体化检测,这种无创、可重复的检测技术为肿瘤精准治疗提供了更多依据<sup>[24]</sup>。在胆系肿瘤中,也有学者报道CTC被用于监测疗效并与预后相关<sup>[25-27]</sup>。本研究通过将外周血中的CTC进行分离和富集后,使用目前临床中应用较多的、有文献数据支持的固定化学治疗方案进行药物敏感性检测,再根据结果选择最佳化学治疗方案,对肿瘤的个体化精准治疗有更好的指导意义。既往虽然也有化学治疗药物敏感性检测的研究,但均为单一化学治疗药物逐个检测,在临床治疗中参考价值并不是很高。

本研究中对照组(GEMOX组)并无完全缓解的病例,CTC组达到完全缓解的患者有1例,考虑可能与入组的患者绝大多数临床分期较晚、肿瘤负荷大有关。CTC组中有8例患者经过药物敏感性检测选择了GC方案,其中1例达到完全缓解、1例部分缓解、4例疾病稳定、2例疾病进展,这也再一次印证了GC方案在胆系肿瘤化学治疗中的疗效,但其不良反应也不容忽视,3级以上血液学不良反应大多出现在该方案治疗的患者中,且胆系肿瘤中合并慢性乙型肝炎和/或肝硬化的患者较多,往往更容易出现严重的中性粒细胞及血小板减

少,导致患者较难达到足剂量、足疗程化学治疗。另外3例部分缓解的患者分别采用AG方案、SOX方案和GX方案治疗,其中SOX方案和GX方案的部分缓解率与既往文献报道的24.5%和23%<sup>[18-19]</sup>类似,但并不是很高,考虑既往报道的数据中主要以欧美人群为主,化学治疗药物使用剂量较大,而对于亚洲患者并不能耐受,使用过程中往往需要减量,这可能影响其肿瘤反应率。本研究中虽然CTC组患者的中位PFS与GEMOX组相比差异无统计学意义( $P=0.313$ ),但CTC组患者的中位OS却优于GEMOX组( $P=0.003$ ),亦较ABC-02研究报道的中位OS(11.7个月)<sup>[7]</sup>更长,这一结果提示通过CTC药物敏感性检测可为患者选择更能获益的化学治疗方案,减轻化学治疗相关不良反应,尤其对合并慢性乙型肝炎和/或肝硬化而不能耐受高强度化学治疗的患者,为后线治疗延长总生存期提供了更多的可能性。安全性分析结果提示,两组患者出现的不良反应均可耐受,未出现治疗相关性死亡。CTC组无论在血液学不良反应还是非血液学不良反应方面,总体不良反应发生率和3、4级不良反应发生率都稍低于GEMOX组,既往研究显示GEMOX方案的不良反应较GC方案轻<sup>[12]</sup>,且在本研究中GC方案治疗患者3级以上不良反应也较多,这提示经过CTC药物敏感性检测后选择化学治疗方案进行治疗较直接选择一线标准GC方案有助于减少患者的不良反应。

综上所述,CTC药物敏感性指导的化学治疗在近期疗效方面提高了肿瘤反应率,在远期疗效方面延长了总生存期,是一种效果肯定的方法。另外,CTC药物敏感性检测简单、快捷、可操作性强,在一定程度上反映了胆系肿瘤对各种化学治疗方案的敏感性和耐药情况,对临床上合理地选择化学治疗方案、避免无效化学治疗引起的不良反应、制订合适的个体化化学治疗方案、增强化学治疗效果、改善预后有一定参考价值,但仍需要大样本、前瞻性的随机对照试验进一步证实。

#### [参考文献]

[1] ADEVA J, SANGRO B, SALATI M, EDELINE J, LA CASTA A, BITTONI A, et al. Medical treatment for cholangiocarcinoma[J]. *Liver Int*, 2019, 39: 123-142.

[2] RAOOF M, SINGH G. Rising trends in intrahepatic cholangiocarcinoma incidence and mortality: getting

at the root cause[J]. *Hepatobiliary Surg Nutr*, 2019, 8: 301-303.

- [3] FLORIO A A, FERLAY J, ZNAOR A, RUGGIERI D, ALVAREZ C S, LAVERSANNE M, et al. Global trends in intrahepatic and extrahepatic cholangiocarcinoma incidence from 1993 to 2012[J]. *Cancer*, 2020, 126: 2666-2678.
- [4] Global Burden of Disease Cancer Collaboration, FITZMAURICE C, ABATE D, ABBASI N, ABBASTABAR H, ABD-ALLAH F, et al. Global, regional, and national cancer incidence, mortality, years of life lost, years lived with disability, and disability-adjusted life-years for 29 cancer groups, 1990 to 2017: a systematic analysis for the global burden of disease study[J]. *JAMA Oncol*, 2019, 5: 1749-1768.
- [5] DEOLIVEIRA M L, CUNNINGHAM S C, CAMERON J L, KAMANGAR F, WINTER J M, LILLEMOE K D, et al. Cholangiocarcinoma: thirty-one-year experience with 564 patients at a single institution[J]. *Ann Surg*, 2007, 245: 755-762.
- [6] KOMAYA K, EBATA T, YOKOYAMA Y, IGAMI T, SUGAWARA G, MIZUNO T, et al. Recurrence after curative-intent resection of perihilar cholangiocarcinoma: analysis of a large cohort with a close postoperative follow-up approach[J]. *Surgery*, 2018, 163: 732-738.
- [7] VALLE J, WASAN H, PALMER D H, CUNNINGHAM D, ANTHONY A, MARAVEYAS A, et al. Cisplatin plus gemcitabine versus gemcitabine for biliary tract cancer[J]. *N Engl J Med*, 2010, 362: 1273-1281.
- [8] SIRAVEGNA G, MARSONI S, SIENA S, BARDELLI A. Integrating liquid biopsies into the management of cancer[J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2017, 14: 531-548.
- [9] 邓敏, 仇毓东, 陈骏, 严笑鹏, 毛凉, 周铁. 胆管细胞性肝癌与肝内胆管癌的临床及病理特征研究[J]. *肝胆外科杂志*, 2015, 23: 165-168.
- [10] ZHOU H B, HU J Y, HU H P. Hepatitis B virus infection and intrahepatic cholangiocarcinoma[J]. *World J Gastroenterol*, 2014, 20: 5721-5729.
- [11] ROTH J A, CARLSON J J. Cost-effectiveness of gemcitabine+cisplatin vs. gemcitabine monotherapy in advanced biliary tract cancer[J]. *J Gastrointest Cancer*, 2012, 43: 215-223.
- [12] FITENI F, NGUYEN T, VERNEREY D, PAILLARD M J, KIM S, DEMARCHI M, et al. Cisplatin/gemcitabine or oxaliplatin/gemcitabine in the treatment of advanced biliary tract cancer: a systematic review[J]. *Cancer Med*, 2014, 3: 1502-1511.
- [13] LEE J, PARK S H, CHANG H M, KIM J S, CHOI H J, LEE M A, et al. Gemcitabine and oxaliplatin with or without erlotinib in advanced biliary-tract cancer:

- a multicentre, open-label, randomised, phase 3 study[J]. *Lancet Oncol*, 2012, 13: 181-188.
- [14] SHROFF R T, JAVLE M M, XIAO L, KASEB A O, VARADHACHARY G R, WOLFF R A, et al. Gemcitabine, cisplatin, and nab-paclitaxel for the treatment of advanced biliary tract cancers: a phase 2 clinical trial[J]. *JAMA Oncol*, 2019, 5: 824-830.
- [15] VON HOFF D D, RAMANATHAN R K, BORAD M J, LAHERU D A, SMITH L S, WOOD T E, et al. Gemcitabine plus nab-paclitaxel is an active regimen in patients with advanced pancreatic cancer: a phase I / II trial[J]. *J Clin Oncol*, 2011, 29: 4548-4554.
- [16] PRIMROSE J N, FOX R P, PALMER D H, MALIK H Z, PRASAD R, MIRZA D, et al. Capecitabine compared with observation in resected biliary tract cancer (BILCAP): a randomised, controlled, multicentre, phase 3 study[J]. *Lancet Oncol*, 2019, 20: 663-673.
- [17] SHROFF R T, KENNEDY E B, BACHINI M, BEKAI-SAAB T, CRANE C, EDELINE J, et al. Adjuvant therapy for resected biliary tract cancer: ASCO clinical practice guideline[J]. *J Clin Oncol*, 2019, 37: 1015-1027.
- [18] SANTINI D, VIRZI V, VASILE E, VINCENZI B, CATALANO V, GRAZIANO F, et al. A phase II trial of fixed-dose rate gemcitabine plus capecitabine in metastatic/advanced biliary tract cancer patients[J]. *Oncology*, 2012, 82: 75-82.
- [19] KIM K P, JANG G, HONG Y S, LIM H S, BAE K S, KIM H S, et al. Phase II study of S-1 combined with oxaliplatin as therapy for patients with metastatic biliary tract cancer: influence of the CYP2A6 polymorphism on pharmacokinetics and clinical activity[J]. *Br J Cancer*, 2011, 104: 605-612.
- [20] LAMARCA A, PALMER D H, WASAN H S, ROSS P J, MA Y T, ARORA A, et al. Second-line FOLFOX chemotherapy versus active symptom control for advanced biliary tract cancer (ABC-06): a phase 3, open-label, randomised, controlled trial[J]. *Lancet Oncol*, 2021, 22: 690-701.
- [21] MIZRAHI J D, GUNCHICK V, MODY K, XIAO L C, SURAPANENI P, SHROFF R T, et al. Multi-institutional retrospective analysis of FOLFIRI in patients with advanced biliary tract cancers[J]. *World J Gastrointest Oncol*, 2020, 12: 83-91.
- [22] ASHWORTH T R. A case of cancer in which cells similar to those in the tumors were seen in the blood after death[J]. *Aust Med J*, 1969, 14: 146-147.
- [23] RACILA E, EUHUS D, WEISS A J, RAO C, MCCONNELL J, TERSTAPPEN L W, et al. Detection and characterization of carcinoma cells in the blood[J]. *PNAS*, 1998, 95: 4589-4594.
- [24] 阎文婷,刘军兰,姜军.循环乳腺癌细胞体外培养技术应用用于药物敏感性的个体化检测[J/CD]. *中华乳腺病杂志(电子版)*, 2015, 9: 152-153.
- [25] YANG J D, CAMPION M B, LIU M C, CHAITEERAKIJ R, GIAMA N H, AHMED MOHAMMED H, et al. Circulating tumor cells are associated with poor overall survival in patients with cholangiocarcinoma[J]. *Hepatology*, 2016, 63: 148-158.
- [26] AL USTWANI O, IANCU D, YACOUB R, IYER R. Detection of circulating tumor cells in cancers of biliary origin[J]. *J Gastrointest Oncol*, 2012, 3: 97-104.
- [27] REDUZZI C, VISMARA M, SILVESTRI M, CELIO L, NIGER M, PEVERELLI G, et al. A novel circulating tumor cell subpopulation for treatment monitoring and molecular characterization in biliary tract cancer[J]. *Int J Cancer*, 2020, 146: 3495-3503.

[本文编辑] 杨亚红