

团体标准

CITS

T/CITS 323—2025

基于患者来源肿瘤类器官的药物敏感性 检测技术规范

Technical specifications for drug sensitivity assay of patient-derived
tumor organoids

2025-03-24 发布

2025-03-24 实施

目 次

前言	II
引言	III
1 范围	1
2 规范性引用文件	1
3 术语和定义	1
4 基本要求	1
4.1 伦理要求	2
4.2 签署知情同意	2
4.3 隐私保护	2
4.4 实施机构	2
5 检测要求	2
5.1 肿瘤组织样本采集、保存和运输	2
5.2 肿瘤类器官培养	2
5.3 肿瘤药物敏感性检测	3
5.4 检测报告	4
附录 A（资料性） 基于患者来源肿瘤类器官的药物敏感性检测的实施	5
附录 B（资料性） 基于患者来源肿瘤类器官的药物敏感性检测申请表（样表）	7
参考文献	9

前 言

本文件按照 GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由中国医学科学院基础医学研究所和国军标（北京）标准化技术研究院提出。

本文件由中国检验检测学会归口。

本文件起草单位：中国医学科学院基础医学研究所、中国医学科学院肿瘤医院、北京宪胜医疗科技有限公司、成都武侯卫教医学检验实验室有限责任公司、中国医学科学院北京协和医院、北京肿瘤医院、浙江大学医学院附属邵逸夫医院、北京大学深圳医院、山东第一医科大学附属省立医院、清华大学、中国人民解放军总医院第一医学中心、中日友好医院、中山大学附属第六医院、北京中检体外诊断工程技术研究中心、北京医学检验学会、北京整合医学学会、天津医科大学肿瘤医院、天津医科大学总医院、首都医科大学附属北京同仁医院、国家新药开发工程技术研究中心（北京科莱博医药开发有限责任公司）、细胞生态海河实验室、国典（北京）医药科技有限公司、大连医学大学附属第一医院、内蒙古医科大学附属医院、北京大学肿瘤医院内蒙古医院（内蒙古医科大学附属肿瘤医院）、达州市中心医院、河北大学附属医院、防城港市第一人民医院、北京实安科技有限公司、昆明医科大学第二附属医院、云南大学生命科学学院、陆军军医大学第二附属医院、重庆大学、北京桓兴肿瘤医院、青岛大学附属医院、深圳大学总医院、北京中医药大学深圳医院（龙岗）/深圳市第三人民医院、深圳市第二人民医院、河北医科大学第四医院、山东第二医科大学附属第一医院、黑玉星岩国际科学技术（北京）有限公司、天津大学、苏州骆华生物科技有限公司、西湖大学、南华大学、东南大学、河北省食品检验研究院、国军标（北京）标准化技术研究院、通标伟业（北京）标准化技术研究院。

本文件主要起草人：宋伟、黄容、刘玉琴、程涛、王婧、蔡建强、赵宏、徐海燕、王燕、马飞、张宁、王秀敏、黄磊、彭兵、淡立琴、吴文铭、刘旭东、张小田、王雅坤、蔡秀军、梁霄、王树滨、宋伟、李新宇、王怡、梁峰、周雷、吴小剑、高峰、胡佩珊、刘炫辉、穆红、刘亮、刘宁波、刘刚、李平栋、李明、杨柳柳、刘晓智、郝莎、张建民、王亮、刘晶、苏丽娅、蔡超、任建军、葛赛、曾凡新、胡芳、李雪、李靖华、史建红、杨季红、钟晓刚、严芝光、李娜、王海峰、郭春明、李忠俊、肖燕妮、杨科、邢晓明、艾莉莎、吴芬芳、黄卫人、陈巍、王军、武亚晶、路中、胡良昌、杨洋、陈力群、苗春光、卞素敏、杨飞、张娟、张岩、戴其全、杨桂花。

引 言

利用肿瘤类器官进行药物敏感性检测，预测患者的临床效果，为肿瘤患者的个性化精准治疗提供可靠的依据。然而，人肿瘤组织的来源可能涉及取材风险和伦理敏感性，药物敏感性检测涉及到肿瘤类器官铺板、加药、结果获取、分析等具体试验操作的标准规范，以及整个过程中的污染控制，都体现了肿瘤类器官药物敏感性检测方案的多样性、复杂性和特殊性。鉴于此，建立一套科学、规范、可操作的技术标准显得尤为重要，有助于提高肿瘤类器官在药物敏感性测试中的可靠性、安全性和规范性，从而推动肿瘤类器官在新药研发、药物适应症的拓展、基础医学和临床诊疗应用的发展。

基于患者来源肿瘤类器官的药物敏感性检测技术规范

1 范围

本文件规定了肿瘤类器官药物敏感性的基本要求及检测要求。

本文件适用于科研院所、医疗机构、生物医药企业、经过验证的第三方医疗机构等进行人源肿瘤类器官药物敏感性检测。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

GB/T 38736—2020 人类生物样本保藏伦理要求

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

患者来源肿瘤类器官 patient-derived tumor organoid

将患者来源的新鲜肿瘤组织或其他含肿瘤细胞的样本，经体外三维（3D）细胞培养系统建立的一种立体培养物。

3.2

药物敏感性检测 drug sensitivity test

利用类器官培养技术在体外测试不同的药物对肿瘤细胞的杀伤效果，从而预测不同药物对肿瘤治疗的有效性，为临床医疗中的药物选择、药物研发及拓展提供依据。

3.3

传代 passage

将培养至一定大小、状态良好的类器官，采用物理机械吹打或联合酶消化方法，使其解离为小细胞团或单细胞悬液，再重新接种于与原培养条件相同的新培养体系中进行体外培养的过程。

3.4

基质胶 matrigel matrix

由层黏连蛋白、IV型胶原、巢蛋白、硫酸肝素糖蛋白等组成，加入有生长因子和基质金属蛋白酶，在室温条件下能够聚合形成具有生物学活性、能够模拟体内细胞基底膜结构和功能，为肿瘤类器官的细胞生长提供支架的三维基质。

3.5

加药 dosing

往接种有肿瘤类器官的培养体系中添加药物或化合物，以研究其对类器官的影响或进行药物筛选。

4 基本要求

4.1 伦理要求

肿瘤类器官药物敏感检测应制订相应的操作标准及管理规范，检测方案不仅应符合《涉及人的生命科学和医学研究伦理审查办法》，还应充分考虑并遵守《人类遗传资源管理暂行办法》中关于人类遗传资源的相关规定。检测项目应通过伦理委员会的审查、批准，并接受其定期跟踪审查。整个检测过程应严格在伦理委员会的监督下进行，确保人遗使用的合规性与伦理性。

4.2 签署知情同意

应在样本采集前获得肿瘤患者（类器官细胞源供者，以下简称供者）的书面知情同意可参考附录 B，明确供者和样本检测者双方的利益和责任。知情同意的要求应符合 GB/T 38736—2020 中 5.3 的要求。

4.3 隐私保护

供者享有隐私权，其个人隐私信息的保密和保护应符合 GB/T 38736—2020 中 6 的要求。

4.4 实施机构

进行肿瘤类器官药物敏感性检测的机构，应具有相应资质。基于患者来源肿瘤类器官的药物敏感性检测的实施见附录 A。

5 检测要求

5.1 肿瘤组织样本采集、保存和运输

5.1.1 样本采集要求包括：

- a) 医疗机构可通过手术、镜检、穿刺等医疗手段获取肿瘤组织；
- b) 药物敏感性检测用组织应无菌采集；
- c) 样本离体后应尽快取材；
- d) 采集的肿瘤组织大小依据采集方式不同而略有区别，对于手术切除组织，宜采集（1x1x1）cm 大小（在保证不影响病理取样的条件下，尽可能多留样本）；对于镜检及穿刺组织，宜在不同肿瘤位点钳取 3 次或粗针穿刺 3 次；
- e) 必要时进行组织学或细胞学鉴定，确保肿瘤细胞数量能满足类器官建立的要求。

5.1.2 样本保存和运输要求主要包括：

- a) 上述采样在低温下（4℃）尽快运送至检测平台，时间越短，培养成功率越高，一般不超过 72 h；
- b) 运输至检测平台的样本应同时匹配患者的临床资料（临床资料至少应包括患者的基本信息、基础疾病、疾病类型、采样部位、病理分型、临床分期、治疗信息，这些信息对于判断肿瘤类器官构建成功率具有重要的参照价值）。

5.2 肿瘤类器官培养

5.2.1 实验准备：提前解冻基质胶；准备专有耗材、试剂；培养基应用 4℃ 冰箱过夜降温。

5.2.2 组织样本处理：样本宜用清洗液低温清洗 2 次~3 次，低温下剪切成 1 mm³~3 mm³ 的小块；用组织消化液将肿瘤组织分散为单个细胞或小的细胞团；对消化后得到的细胞进行计数，细胞数量应不少于 10⁴ 个，细胞活力应在 90% 以上。

注：细胞活力通过台盼蓝染色以及细胞自动计数仪检测。

5.2.3 细胞接种：离心后细胞团块与适当体积的基质胶充分混匀后，接种至培养皿或培养板，置于 37℃ 培养箱，使基质胶凝固。

5.2.4 添加培养基：根据不同的肿瘤细胞类型，选择适合的培养基成分和配方（通常包括基础培养基、生长因子、激素、抗生素等）。

5.2.5 类器官培养：37℃、5% CO₂、饱和湿度培养。

5.2.6 显微镜观察和分析：定期使用显微镜观察类器官培养物的形态结构、增殖情况、凋亡情况等；在肿瘤类器官培养初期，显微镜下每天动态观察其生长状态，每 2 d~3 d 采集图像，一般 7 d 内可见肿瘤类器官基本形态，6 d~14 d 内可见肿瘤类器官明显生长趋势。

5.2.7 传代：类器官密度达到 80%~90%，直径 100 μm ~200 μm 时进行传代扩增；肿瘤类器官传代可采用机械法或酶消化法，应采用显微镜密切观察过程，适时终止消化；2 d~3 d 后肿瘤类器官形态再次形成，并有明显生长趋势，代表肿瘤类器官扩增后的生长状态佳。

5.2.8 鉴定：肿瘤类器官培养成功后，应留取部分样本进行鉴定：

- 至少进行苏木精和伊红染色（hematoxylin and eosin stains; H&E stains），确定肿瘤类器官病理类型与原肿瘤组织一致；
- 可进行肿瘤相关标志物的鉴定；
- 可进行短串联重复序列（short tandem repeat, STR）检测及分型鉴定，肿瘤类器官应与供体 STR 一致；
- 应保证安全性，采用单人单箱操作；
- 应尽可能保证肿瘤类器官的纯净及完整性，如用肿瘤类器官回收液尽可能将基质胶去除干净、分散肿瘤类器官时应采用阔口移液器吸嘴或剪切移液器吸嘴等；
- 对肿瘤类器官进行评估鉴定时，应符合肿瘤类器官药物敏感性检测的时效性要求。

5.3 肿瘤药物敏感性检测

5.3.1 肿瘤类器官接种到药敏检测板

应严格控制实验条件和操作流程，主要包括：

- 用于药物敏感性检测的类器官应保证真菌、细菌、支原体等均为阴性；
- 类器官的活性不低于 60%，类器官的活性可通过显微镜观察并统计活的类器官数目占总体类器官数目的百分比；
- 将所需的肿瘤类器官培养至适宜密度后用无菌磷酸盐缓冲液（phosphate buffer saline, PBS）洗涤，并用类器官消化液消化，制成细胞悬液；
- 通过不同孔径的滤筛两次过滤，获得直径在一定范围内的细胞团悬液（一般取 40 μm ~70 μm 的细胞团进行药敏检测）；
- 取一定数量的细胞团，加入一定量的基质胶，混匀，使得基质胶的浓度为 5%~50%，制备细胞悬液，接种到不透明壁微孔板（384 孔或 96 孔）；
- 微孔板边缘孔不接种细胞，并加入 PBS。

5.3.2 药物配置

药物配置主要包括：

- 实验应设置阴性对照组、空白组、阳性对照组、药物测试组；
- 药物剂量的选择依据临床用药的浓度；
- 每个药物设置 5 个~10 个浓度，每个药物浓度对应 3 个~5 个孔；
- 配制药物储液板，并在加药前进行核对。

5.3.3 加药

加药主要包括：

- 一般在肿瘤类器官接种 1 d~3 d 后可进行加药实验；
- 加药前观察每孔样本状态，剔除异常孔，并进行半量换液，同时在显微镜下拍照；
- 将不同浓度的药物加入到含有细胞悬液的培养板中，培养 3 d~6 d。

5.3.4 药敏检测

药敏检测主要包括：

- 观察并记录每个孔中的类器官形态变化；
- 利用细胞活力检测试剂盒检测各孔类器官的活力值。

5.3.5 数据分析与处理

5.3.5.1 质控 1，阴性对照孔的变异系数应低于 0.22。变异系数按照公式（1）计算：

$$CV = SD/mean. \dots \dots \dots (1)$$

式中：

- CV——变异系数；
- SD——标准偏差；
- mean——平均值。

5.3.5.2 质控 2，Z-factor 应大于 0.4。Z-factor 按照公式（2）计算：

$$Z - factor = 1 - (3 \times (sdp + sdn) / |(mp - mn)|) \dots \dots \dots (2)$$

式中：

- mp——阳性对照孔的平均值；
- mn——阴性对照孔的平均值；
- sdp——阳性对照孔的标准差；
- sdn——阴性对照孔的标准差。

注：若类器官对阳性对照药物不敏感，则用空白组的发光值代替阳性对照孔。

5.3.5.3 计算测试孔的相对活力 RCV，按照公式（3）计算：

$$RCV = (L_{\text{测试组}} - L_{\text{空白组}}) / (L_{\text{阴性对照组}} - L_{\text{空白组}}) \times 100\% \dots \dots \dots (3)$$

式中：

- RCV——类器官相对活力；
- $L_{\text{测试组}}$ ——具有类器官、类器官活力检测试剂和药物溶液的孔的发光值；
- $L_{\text{空白组}}$ ——具有培养基、类器官活力检测试剂，而没有类器官的孔的发光值；
- $L_{\text{阴性对照组}}$ ——具有类器官、类器官活力检测试剂，而没有药物溶液的孔的发光值。

5.3.5.4 使用 Excel、GraphPad Prism 或 R 软件计算药物对类器官的生长抑制率、半数抑制浓度、药物浓度-细胞活力值曲线的曲线下面积。

5.4 检测报告

5.4.1 检测报告中对于结果的呈现方式包括但不限于：

- a) 肿瘤类器官生长抑制形式；
- b) 半数抑制浓度形式；
- c) 效应曲线斜率形式或曲线下面积形式；
- d) 几分类法呈现，如二分类法分出的敏感和耐药或三分类法分出的敏感、一般、耐药等。

5.4.2 检测报告中应提供较为详尽的信息及关键性的结论，主要包括：

- a) 样本处理当天的肿瘤类器官图片与培养成功的肿瘤类器官图片（标记数量范围/直径）；
- b) 用药前与用药后肿瘤类器官图片；
- c) 检测结果量化数值；
- d) 药物敏感性检测曲线图；
- e) 检测结果总结性概述；
- f) 药物敏感性结果判断的参考文献等。

5.4.3 肿瘤类器官药物敏感性检测报告应由医疗机构或第三方检测单位以纸质版或电子版报告形式呈现，反馈给患者及其接诊医师。

附录 A

(资料性)

基于患者来源肿瘤类器官的药物敏感性检测的实施

A.1 概述

作为精准医疗时代的一种新型检测技术,基于肿瘤类器官药物敏感性检测指导患者用药选择仍处于起步阶段,应以“一切以患者为中心,提高患者治疗获益”为宗旨,并根据患者的个人需求及临床医师的综合评估,选择性建议进行肿瘤类器官药物敏感性检测。

A.2 适用人群

对于临床诊疗指南有明确标准且证据级别较高的治疗方案,患者宜按照指南规范优先选择。而对于标准治疗失败的患者、目前尚缺乏标准治疗的罕见或难治性肿瘤患者以及现有指南推荐级别较低且很可能无法从指南推荐方案中获益的患者等,在征得患者知情同意下,可建议进行肿瘤类器官培养和药物敏感性检测,为其药物选择提供参考,同时也可以鼓励患者参加合适的临床试验。

此外,医师还可在下述情况下根据患者意愿推荐其进行肿瘤类器官药物敏感性检测:

- a) 多原发肿瘤患者或临床治疗很棘手的患者无法决定治疗策略时,可根据肿瘤类器官生长情况及药物敏感性检测结果,建议选择的药物方案与顺序;
- b) 在临床上,医师可根据患者情况向其推荐超说明书适应症的药物,在遵守相应法律法规条件下,可建议患者进行肿瘤类器官药物敏感性检测,综合判断超说明书适应症药物的潜在疗效;
- c) 研究者发起的基于肿瘤类器官药物敏感性指导患者个性化治疗的前瞻性临床研究。

A.3 实施基础

肿瘤类器官药物敏感性高通量检测涉及患者肿瘤类器官在微孔板(通常为384孔板和1536孔板)中的分装、大规模药物微量施加、药物敏感性判读等多个关键环节。这些步骤通常需要依靠自动化设备完成,如,利用自动分液器或移液工作站完成患者肿瘤类器官在微孔板中的分装,利用自动微量加样仪完成不同剂量、不同种类药物的快速施加,利用高内涵细胞成像分析系统、酶标或化学发光细胞活性分析系统完成药物敏感性判读。未来可以整合肿瘤类器官药物敏感性高通量检测关键环节的自动化设备,建立自动化工作站进行肿瘤类器官药物敏感性高通量检测。

除常规384孔板和1536孔板外,高通量芯片也是肿瘤类器官药敏性测试的未来发展方向,具有通量高、检测灵敏度高、肿瘤类器官用量少、试剂和仪器成本低、易于实现自动化操作等优势。由于肿瘤类器官药物敏感性高通量检测通常由第三方检测平台完成且费用昂贵,在检测前务必向患者及其家属充分说明并签署知情同意书。

A.4 肿瘤类器官药物敏感性检测与其它药物敏感性检测技术的区别

肿瘤类器官直接来源于患者的肿瘤组织,保留了肿瘤组织的异质性。可以检测多种类型的化疗药物、靶向药物以及部分免疫治疗药物的药物敏感性,因此能够更全面地反映肿瘤对不同药物的反应;能够保留原始肿瘤组织的多种特征,因此其药物敏感性检测结果具有较高的准确性和可靠性;可以在体外长期培养与稳定传代,为多次检测提供了可能;类器官药物敏感性检测已逐渐被推荐为临床指导个性化用药的体外模型之一,在肿瘤精准治疗方面,具有广阔的应用前景。

其他药物敏感性检测技术通常基于二维(2D)细胞培养,通过暴露于不同药物来评估其敏感性,因而受限于所用细胞系或样本的特性,无法完全反映患者体内肿瘤的实际情况,也无法用以评价以肿瘤微环境和肿瘤免疫为靶点的抗肿瘤药物。

肿瘤类器官药物敏感性检测与其他药物敏感性检测技术在模型特性、检测对象与范围、临床应用等

方面均存在显著差异。肿瘤类器官药物敏感性检测由于其高度模拟真实器官的特性，在药物研发和个性化治疗领域具有广阔的应用前景。然而，其高昂的培养成本和复杂的操作流程也是需要考虑的因素之一。在实际应用中，应根据具体研究目的和条件选择合适的检测模型。



附 录 B

(资料性)

基于患者来源肿瘤类器官的药物敏感性检测申请表（样表）

姓名(正楷书写):	性别: <input type="checkbox"/> 男 <input type="checkbox"/> 女	出生日期: 年 月	年龄:
门诊/住院号:		联系方式:	采样日期: 年 月 日
身份证号码:		患者 ID:	病案号:
送检单位(医院):		医生姓名:	科室电话:
病情说明:			
病程管理项目(复发监控):			
病程管理检测阶段: <input type="checkbox"/> 术前 <input type="checkbox"/> 术后 3 个月 <input type="checkbox"/> 术后 9 个月			
疾病类型:			

知情同意书

尊敬的受检者:

只有受检者充分了解肿瘤类器官检测及其可能的风险、填写《基于患者来源肿瘤类器官的药物敏感性检测申请表》并且签署《知情同意书》，检测机构才能进行相应的检测。在您决定肿瘤类器官药敏检测之前，请仔细阅读以下内容：

一、关于检测结果：鉴于相关肿瘤类器官药敏检测技术和可参考的数据处于不断发展中，检测结果的解读有可能会随着大数据的积累而有所修正，这是科学发展的必然过程，所以有些结果的意义解读也是有一定的时限性的。检测机构不对不可抗逆因素导致的检测结果误差负责。本检测结果可为疾病的早期发现及健康管理提供重要的参考依据。检测机构不对受检者接收和使用本检测报告后所产生的包括但不限于心理、法律及应用方面的任何后果负责。

二、关于样本：检测机构不对非直接在本机构采样的受检者提供的样本真实性（即样本是否属于受检者本人）负责。本检测样本源自受检者肿瘤组织和/或血液，不能排除因采集不当发生样本污染导致的检测误差，如在采集、存储、运输过程中因不可归责于检测机构的因素导致样本无法达到检测要求，检测机构将要求受检者重新提供样本。

三、关于受检者隐私：检测机构将对受检者的样本、肿瘤药敏检测结果报告保密。检测机构只对“送检方”发一份报告，并要求“送检方”对受检者的报告及结果保密，若属于收费药敏检测，则对受检人或受检人家属增发一份报告。除法律规定必须提供的情况之外，不会呈交给任何其他组织或个人。

四、检测机构对出具的检测报告具有最终解释权。

本人及本人法定代理人 同意 不同意在进行数据脱敏后，检测数据可供科学研究（包括学术研究、医疗发展及公共健康等）参考，检测机构对检测涉及的样本进行处理和非盈利性科学研究及商业开发。同时，检测机构也将尊重您的隐私权，确保您的个人信息不被泄露，确保数据的准确性与完整性。本人已知晓上述所有内容，已充分了解本检测的性质、预期目的、风险性和局限性，经本人慎重考虑自愿进行该项检测，并承担因检测带来的相关风险。

知情同意书签字页

受试者声明

患者签名_____日期_____

法定代理人签名*_____日期_____与患者的关系_____

*除非受试者不能阅读（如文盲或盲人）或因其他原因不能自行签名，否则不需要法定代理人的签名

检测潜在风险：

1. 鉴于当前医学检测技术水平的限制和肿瘤患者个体差异等原因，即使在检测人员已经履行了工作职责和操作规程的前提下，检测结果仍可能出现假阳性或假阴性。
2. 如果取得的样本量过小，将影响检测的成功率。
3. 本检测结果仅供参考，不作为最终治疗方案。若受检者不当地使用该结果而带来心理、生理负担，医院及检测机构不承担责任和风险。

检测者声明

检测者签名_____日期_____

检测者联系方式_____

参 考 文 献

- [1] 药品生产质量管理规范（2010年修订） 中华人民共和国卫生部令（第79号），2011.2.12
- [2] 中华人民共和国人类遗传资源管理条例 中华人民共和国国务院令（第717号），2019.06.10
- [3] 涉及人的生命科学和医学研究伦理审查办法 国卫科教发〔2023〕4号
- [4] 中国抗癌协会肿瘤多学科诊疗专业委员会,中国抗癌协会肿瘤内分泌专业委员会.肿瘤类器官诊治平台的质量控制标准中国专家共识[A].中国癌症杂志,2022,32(7):657-668.DOI:10.19401/j.cnki.1007-3639.2022.07.010
- [5] 王若彤,王欣,沈波.类器官在肿瘤转化医学中的应用和进展[A].中国癌症杂志,2022,32(11):1105-1113.DOI:10.19401/j.cnki.1007-3639.2022.11.009
- [6] 王树滨,高静,朱宇,黄卫人,李刚,陈伟,蔡建.类器官药物敏感性检测指导肿瘤精准治疗临床应用专家共识(2022年版)[A].中国癌症防治杂志,2022,14(13):234-239
-