团 体 标 准

《乳腺癌类器官药物敏感性检测指导患者精准治疗技术规范》

（征求意见稿）

编制说明

标准起草工作组

2024年9月

一、工作简况

（一）任务来源

根据2024年全国标准化工作要点，加强质量支撑和标准引领，深入推进国家标准化发展纲要各项重点任务实施，以标准有力引领现代化产业体系建设，推动标准化更好服务经济社会高质量发展。依据《中华人民共和国标准化法》和《团体标准管理规定》（国标委联[2019]1号）的相关要求，中国食品药品企业质量安全促进会批准立项并联合相关单位共同制定《乳腺癌类器官药物敏感性检测指导患者精准治疗技术规范》团体标准。

（二）制定背景

在精准医疗时代，随着肿瘤靶向治疗及免疫治疗的快速发展，患者对个体化精准药物治疗的需求越来越高。传统的肿瘤治疗方法往往缺乏针对性，导致治疗效果有限且副作用明显。因此，开发新的技术手段以提高肿瘤治疗的精准性成为医学界的重要课题。乳腺癌作为一种常见的恶性肿瘤，其异质性一直是抗肿瘤药物研发以及实现肿瘤患者个性化精准治疗需要克服的难点。不同患者之间的乳腺癌在基因表达、分子特征、药物反应等方面存在显著差异，这使得同一种治疗方案在不同患者身上的效果大相径庭。因此，寻找一种能够准确反映患者肿瘤特征并指导个性化治疗的技术手段显得尤为重要。

类器官技术作为一种新兴的功能性检测技术，近年来在肿瘤精准治疗中展现出巨大的应用潜力。类器官是将患者来源的新鲜肿瘤组织经体外三维(3D)细胞培养系统建立的、与患者肿瘤特征高度相似的一种立体模型。由于其能够很好地保留肿瘤组织的细胞结构、分子特征以及药物敏感性等关键信息，因此被广泛应用于疾病病理学、精准医疗以及新药研发等方面。为了推动乳腺癌类器官药物敏感性检测在临床中的规范应用，国内外相关领域专家基于大量研究报道数据制定了相应的技术规范或专家共识。这些规范或共识对乳腺癌类器官的定义、受检药物的选择及应用场景、实施规范、检测流程、综合分析、临床意义等方面进行了详细阐述，为临床实践和科研探索提供了指导和参考。

随着技术的不断进步和临床数据的积累，乳腺癌类器官药物敏感性检测指导患者精准治疗技术将不断得到完善和推广。未来，通过产、学、研、医跨界合作，将进一步推动类器官技术在肿瘤精准治疗领域的发展和应用，为更多患者带来福音。

制定《乳腺癌类器官药物敏感性检测指导患者精准治疗技术规范》的目的主要体现在推动精准医疗发展、提高治疗效果、促进科研与临床转化、应对乳腺癌治疗的复杂性、提高检测的可重复性和可比性、促进技术的普及和应用以及保障患者权益和安全等方面。这将有助于推动乳腺癌精准治疗的发展，提高患者的治疗效果和生活质量。

（三）起草过程

3.1 标准研制阶段

2024年3～6月，起草组通过企业调研，了解企业实际生产情况，并组织收集、整理相关标准化资料、专业文献等，经成分分析、研讨、论证后编写完成《乳腺癌类器官药物敏感性检测指导患者精准治疗技术规范》立项申请书及标准框架相关内容，并向中国食品药品企业质量安全促进会提出标准立项申请。

3.2 标准立项阶段

2024年7月，中国食品药品企业质量安全促进会正式发布了《乳腺癌类器官药物敏感性检测指导患者精准治疗技术规范》团体标准立项通知，并在全国团体标准信息平台进行公示。

3.3 标准起草阶段

2024年7月～2024年9月，依据《中华人民共和国标准化法》、《国务院关于深化标准化工作改革方案》等文件的要求，按照团体标准的制修订程序组织有关技术人员成立标准起草工作组，通过相关信息化手段进行多次内容讨论和交流，并向相关单位和专家咨询，在广泛听取各方意见和充分论证的基础上，对标准初稿进行了完善和修改后经起草组确认，同意作为征求意见稿，公开征求意见。

二、编制原则

在标准制定过程中，标准起草工作组按照GB/T 1.1—2020 给出的规则编写，主要遵循以下原则：

（1）协调性: 保证标准与国内现行国家标准、行业标准协调一致。

（2）规范性：严格按照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》给出的规则起草，保证标准的编写质量。

（3）适用性：结合生产企业管理实践和产品的主要环境影响，提出对企业产品的具体质量要求和生产经营规范。

三、主要技术内容及其确定依据

本标准规定了乳腺癌类器官药物敏感性检测的样本采集与处理、类器官建立与培养、药物敏感性检测、结果解读与精准治疗建议。

本标准适用于乳腺癌类器官药物敏感性检测和指导治疗乳腺癌患者。本标准给出了乳腺癌类器官的术语和定义。将乳腺癌类器官定义为：利用

乳腺癌患者的肿瘤组织或细胞，在体外三维培养条件下形成的具有类似原生组织结构的三维细胞团，能够模拟原生肿瘤组织的生理和病理特性。

样本采集与处理

样本采集

a）采集对象应为确诊为乳腺癌的患者，在符合医学伦理和患者知情同意的前提下进行样本采集。

b）通过手术或穿刺活检获取新鲜的乳腺癌组织样本。采集过程中应严格遵守无菌操作规范，避免样本污染。

c）根据实验需求采集足够量的样本，确保后续类器官培养和药物敏感性检测的顺利进行。

样本处理

将采集到的乳腺癌组织样本按照以下步骤进行处理：

1）初步处理：将组织样本立即放入含有适量培养基或保存液的无菌容器中，以保持细胞的活性；

2）清洗与消毒：用无菌生理盐水或PBS缓冲液轻轻冲洗样本，去除表面的血迹和污染物。避免使用刺激性强的化学消毒剂；

3）切割与消化：将组织样本切割成小块，便于后续的消化和分离。使用适宜的消化酶（如胰蛋白酶、胶原酶等）在37℃下进行消化，直至组织块分散成单个细胞或细胞团；

4）细胞悬液制备：消化完成后，通过离心去除消化液，加入适量的培养基重悬细胞，制备成单细胞悬液，用于后续的类器官培养。

质量控制与记录

a）在样本处理过程中和处理后，应进行细胞活性检测（如台盼蓝染色法），确保细胞的活力和数量满足实验要求。

1. 对处理后的细胞悬液进行微生物污染检测，确保无细菌、真菌等污染。

c）详细记录样本的采集时间、地点、患者信息等，以及样本处理过程中的关键步骤和参数，确保实验的可追溯性和重复性。

类器官建立与培养

细胞接种与基质准备

a）基质胶准备

选择适宜的基质胶，如Matrigel或其他生物工程基质，用于模拟体内微环境，并为类器官的形成提供支持。

b）细胞接种

将处理好的乳腺癌细胞或细胞团接种在基质胶上，确保细胞分布均匀，密度适中。

培养条件设置

a）培养基

根据乳腺癌类器官的生长需求，选择含有必需营养成分、生长因子和激素的培养基。

b）环境条件

维持培养环境的温度在37°C，CO2浓度为5%，并保持适宜的湿度，以模拟体内生理条件。

c）换液与观察

定期更换培养基，以去除代谢产物和补充营养物质。同时，定期观察类器官的生长情况，记录形态变化、增殖速率等关键指标。

类器官形成与监测

a）在接种后，持续监测细胞在基质胶中的生长和分化情况，直至形成具有三维结构的类器官。

b）定期使用显微镜观察类器官的形态学特征，确保其结构与原生乳腺癌组织相似。

培养周期与传代

1. 根据类器官的生长速度和实验需求，设定合理的培养周期。

b）当类器官生长到一定程度时，进行传代操作，即将类器官分散成单个细胞或小块，重新接种到新的基质胶上继续培养。

培养过程中的质量控制

1. 定期对培养物进行污染检测，确保无细菌、真菌或其他微生物的污染。

b）详细记录类器官的生长情况，包括形态学变化、生长速度等，以便后续分析。

药物敏感性检测

a）检测原理

药物敏感性检测基于类器官对药物的反应来评估其疗效。通过检测药物对乳腺癌类器官生长、增殖或凋亡的影响，预测该药物对患者的可能疗效。

1. 实验准备

1）药物选择：根据临床需求和患者情况，选择待测药物。

2）药物浓度设置：针对每种药物，设定多个浓度梯度，以全面评估药物在不同浓度下对类器官的影响。

3）对照组设置：设立未经药物处理的对照组，以便准确评估药物效应。

1. 铺板

1）培养板的选择：应选择透明、无菌、对细胞无毒性的培养板，以确保类器官的正常生长和观察。宜使用低吸附性的培养板，以减少类器官与培养板表面的粘附，保持类器官的3D结构。

2）类器官密度：在铺板时，应控制类器官的密度，避免过度拥挤或过于稀疏，以保证类器官的正常生长和药物敏感性检测的准确性。

推荐的类器官密度应根据具体实验条件和类器官的大小而定，一般建议在培养板的每个孔中放置适当数量的类器官。

3）基质胶浓度和体积：基质胶应用于支持类器官的生长和维持其3D结构。基质胶的浓度和体积应根据类器官的类型和大小进行优化，以确保类器官在培养过程中的稳定性和生长状况。

1. 加药

1）药敏培养基配方：药敏培养基应包含必需的营养成分和生长因子，以支持类器官的正常生长和代谢。培养基的配方应根据类器官的具体需求和实验设计进行优化。

2）药物浓度梯度稀释：药物应按照预定的浓度梯度进行稀释，以评估不同药物浓度对类器官的影响。稀释过程中应确保药物的均匀分布和准确浓度，避免浓度误差对实验结果的影响。

3）药物处理时间：药物处理时间应根据药物的性质和实验目的进行确定。推荐在处理前进行预实验，以确定最佳的药物处理时间。

1. 检测

1）3D类器官细胞活力ATP检测法：通过测量类器官中的ATP水平来评估细胞活力。应按照试剂盒说明书进行操作，确保测量结果的准确性。

2）3D无损成像检测法：使用高分辨率显微镜对类器官进行无损成像，观察类器官的形态变化和生长情况。成像过程中应避免对类器官造成损伤或干扰。

3）AOPI荧光染色检测法：使用AOPI荧光染料对类器官进行染色，通过荧光显微镜观察活细胞和死细胞的分布情况。染色过程中应确保染料的均匀渗透和适当浓度，以获得清晰的荧光信号。

1. 数据分析

1）IC50计算：根据药物浓度和对应的细胞活力数据，使用合适的统计方法计算IC50值（半抑制浓度）。IC50值可用于评估药物对类器官的抑制效果，并比较不同药物或不同类器官之间的敏感性差异。

2）类器官图片分析：对类器官的图片进行定量分析，包括大小、数量、边缘粗糙度、中空度等反应器官活力的指标，可用于评估类器官的生长状况和药物对类器官形态的影响。

3）荧光强度分析：对AOPI荧光染色后的类器官图片进行荧光强度分析，分别计算绿色荧光（代表活细胞）和红色荧光（代表死细胞）的强度。通过比较不同药物处理组之间的荧光强度差异，评估药物对类器官细胞活力的影响。

1. 结果判定与报告

1）敏感性判定：依据统计分析结果，制定敏感性判定标准，如将药物敏感性分为高度敏感、中度敏感和低敏感等级。

2）报告撰写

应撰写详细的药物敏感性检测报告，包括但不限于以下内容：

——实验基本信息：包括实验时间、地点、操作人员、使用的类器官来源等；

——实验方法与材料：详细描述实验方法、使用的药物及其浓度设置；

——结果部分：展示药物敏感性检测的各项指标结果；

——分析讨论：对实验结果进行深入分析，探讨药物敏感性的可能机制，以及实验结果对患者的治疗指导意义；

——结论与建议：根据实验结果，给出明确的药物敏感性结论，并提出针对患者的个性化精准治疗建议。

——报告应由专业人员进行审核，确保数据的准确性和报告的完整性。对于关键数据和结论，应进行多次复核，避免出现错误或遗漏。

结果解读与精准治疗建议

结果解读

a）药物敏感性判定：根据第6章药物敏感性检测的结果，将药物对乳腺癌类器官的抑制作用进行量化评估。通常，抑制率超过50%可认为药物对该类器官有明显的抑制作用。

结合药物的IC50值（半数抑制浓度）来综合判断药物对肿瘤细胞的杀伤能力。IC50值越低，表示药物对肿瘤细胞的杀伤能力越强。

b）结果可靠性分析：对比不同药物或同一药物不同浓度下的抑制作用，以评估结果的稳定性和可靠性。分析实验过程中的可能干扰因素，如类器官的质量、药物的稳定性等，以确保结果的准确性。

精准治疗建议

a）个性化治疗方案制定：根据药物敏感性检测结果，为患者筛选出敏感药物，避免使用不敏感或耐药的药物。结合患者的临床情况、病理类型、分期等因素，制定个性化的精准治疗方案。

b）治疗方案调整建议：对于初次治疗效果不佳的患者，根据药物敏感性检测结果调整治疗方案，更换或增加敏感药物。定期监测患者的治疗效果，根据反馈及时调整治疗方案，以确保治疗效果的最大化。

c）注意事项与风险提示：提醒患者注意药物的副作用和不良反应，及时与医生沟通并调整用药方案。对于某些特殊类型的乳腺癌（如HER2阳性、三阴性乳腺癌等），应特别关注相关药物的敏感性情况，并给予针对性的治疗建议。

四、标准中如果涉及专利，应有明确的知识产权说明

本文件不涉及专利及知识产权问题。

五、采用国际标准和国外先进标准情况，与国际、国内同类标准水平的对比情况

本文件为首次自主制定，不涉及国际国外标准采标情况。

六、与有关现行法律、法规和强制性国家标准的关系

本文件与相关法律、法规、规章及相关标准协调一致，没有冲突。

七、重大分歧意见的处理经过和依据

本文件在制定过程中未出现重大分歧意见。

八、贯彻标准的要求和措施建议

本文件发布后，应向相关企业进行宣传、贯彻，推荐执行该文件。

九、其他应当说明的事项

无。