

· 共识与指南 ·

中国经内镜消化系统常见恶性肿瘤组织 取样及类器官培养专家共识(2024, 成都)

中华医学会消化病学分会医工交叉协作组

通信作者: 胡兵, 四川大学华西医院消化科, 成都 610041, Email: hubingnj@163.com

【提要】 消化系统恶性肿瘤是全球主要的癌症病种, 其发病率和死亡率均居前列。部分进展期肿瘤需要接受化学治疗、放射治疗、靶向药物治疗或者免疫治疗。肿瘤对治疗的敏感性是决定患者临床结局的关键因素。肿瘤类器官可较好保留原始肿瘤的遗传学特征与生物学行为, 可用于评价治疗敏感性。消化内镜对消化系统肿瘤取样具有独特的优势, 但目前国内尚无关于经内镜消化系统恶性肿瘤组织取样及后续相关类器官培养的共识。2024 年, 中华医学会消化病学分会医工交叉协作组组织全国领域内权威专家讨论, 结合国内外循证与生物实验证据, 形成了内镜取样与类器官培养专家共识, 以期规范各医疗机构与类器官培养平台操作。本共识包括内镜取样适应证与伦理、内镜取样、样本存储与运输和类器官培养等 4 个部分, 共 15 条陈述。

【关键词】 消化系统肿瘤; 类器官; 活组织检查; 培养; 共识

基金项目: 国家自然科学基金(82170675)

Chinese expert consensus on endoscopic biopsy and organoid culture techniques for gastrointestinal cancers (2024, Chengdu)

Medical-Engineering Collaborative Group, Gastroenterology Branch of Chinese Medical Association

Corresponding author: Hu Bing, Department of Gastroenterology, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, China, Email: hubingnj@163.com

【Summary】 Gastrointestinal cancers are among the top-ranking malignancies globally, with both high incidence and mortalities. Some advanced tumor need to receive further chemotherapy, radiotherapy, targeted therapy or immunotherapy. The sensitivity of tumor cells to treatment is the key factor that determines patients' outcomes. Tumor organoids could be used to evaluate therapeutic sensitivity, because its genetic characteristics and biological behaviors are highly consistent with the original tumors. Digestive endoscopy has unique advantages in digestive malignant tumor biopsy. However, there was no consensus concerning endoscopic tissue biopsy and corresponding tumor organoid culture methods of digestive malignant tumor at present in China. Therefore, Medical-Engineering Collaborative Group, Gastroenterology Branch of Chinese Medical Association organized authoritative experts in this field to formulate this expert consensus regarding endoscopic biopsy and organoids culture methods combining evidence-based and bio-experimental evidence at home and abroad so as to standardize operational protocol in medical institutes and platforms of organoid culture. This consensus is composed of four categories including indication and morality, endoscopic biopsy, sample storage and transportation, and organoid culture with 15 statements.

【Key words】 Digestive system neoplasms; Organoids; Biopsy; Culture; Consensus

Fund program: National Natural Science Foundation of China (82170675)

DOI: 10.3760/cma.j.cn321463-20240329-00164

收稿日期 2024-03-29 本文编辑 周昊 唐涌进

引用本文: 中华医学会消化病学分会医工交叉协作组. 中国经内镜消化系统常见恶性肿瘤组织取样及类器官培养专家共识(2024, 成都)[J]. 中华消化内镜杂志, 2024, 41(5): 337-350. DOI: 10.3760/cma.j.cn321463-20240329-00164.



中华医学会杂志社
Chinese Medical Association Publishing House

版权所有 违者必究



类器官作为一种可模拟原始组织形态、细胞成分和遗传特性的三维细胞培养形态,已被广泛用作研究发育和疾病的模型^[1-2]。近年来,随着临床肿瘤精准治疗的深入开展,对肿瘤治疗(化学、靶向、放射、免疫)效果的精准预测已成为热门领域。既往一般通过患者的临床特征、肿瘤分期、影像学特征、分子学标志物,甚至联用人工智能来预测肿瘤对治疗敏感与否^[3-8]。但这些预测都是间接的,我们更迫切地需要获取更直接的肿瘤敏感性数据。传统的消化道肿瘤机制研究及敏感性试验采用肿瘤细胞系、动物模型,以及患者来源肿瘤异种移植模型^[9]。前者的缺点在于突变的细胞系已无法反映原始肿瘤的特性,后两者的缺点在于造模时间长、费用高、难以高通量应用,部分模型也难以反应原始肿瘤的特性;而类器官则可较好地弥补这几者的缺陷^[10-11]。

患者来源的肿瘤类器官(patient-derived organoids, PDO)的样本主要通过外科手术切除、活组织检查及采集循环肿瘤细胞等方式获得^[11]。通过外科手术获取样本,患者术后需等待较长时间才能得到敏感性检测结果。而消化内镜可在术前获取组织样本用于培养类器官,以利于患者术后及时得到有效的序贯治疗。目前,尚缺乏针对基于消化内镜获取肿瘤活检样本及相关类器官培养的技术规范。因此,本共识旨在围绕消化系统常见恶性肿瘤(食管癌、胃癌、结直肠癌、胰腺癌等)在内镜适应证与伦理、内镜取样、样本储存与运输和类器官培养等方面内容形成统一推荐意见,推动肿瘤内镜取样与类器官培养规范化,为未来各级机构开展消化系统肿瘤类器官培养及敏感性检测提供指导。

本共识由中华医学会消化病学分会医工交叉协作组负责撰写。共识起草小组在专家委员会指导下,基于“类器官”“食管癌”“胃癌”“结直肠癌”“胰腺癌”“超声内镜”“活检”“活检钳”“organoid”“esophageal/oesophageal cancer”“gastric cancer”“colorectal cancer”“pancreatic cancer”“endoscopic ultrasonography”“biopsy”“forceps”“FNA”“FNB”等关键词在 PubMed、Embase、Web of Science、Cochrane Library、中国知网、万方数据知识服务平台和中国生物医学文献数据库进行系统检索,形成若干议题。证据检索截止日期为 2024 年 3 月 1 日。

本共识在制定过程中,使用推荐意见分级的评估、制定与评价(Grading of recommendations, Assessment, Development and Evaluation, GRADE)方法对取样相关临床证据质量和共识意见进行分级(表 1)^[12-15]。类器官培养相关文献证据质量依据研究方法和文献质量(影响力)经文献评阅小组确定(表 2)。最终共识意见是否达成,由委员会专家根据改良 Delphi 方法投票表决,分为“完全同意”“同意,有较小保留意见”“同意,有较大保留意见”“不同意”4 个选项,共识水平定义为“完全同意”与“同意,有较小保留意见”所占百分比之和,当共识水平>80%时,认定为共识达成。最终,达成 4 大类 15 项专家共识(表 3)。

表 1 推荐意见证据质量与推荐强度分级

项目	具体描述
证据质量(分级)	
高(A)	我们非常确信真实的效应值接近效应估计
中(B)	对效应估计值我们有中等程度的信心:真实值有可能接近估计值,但仍存在二者大不相同的可能性
低(C)	我们对效应估计值的确信程度有限:真实值可能与估计值大不相同
极低(D)	我们对效应估计值几乎没有信心:真实值很可能与估计值大不相同
推荐强度	
强	评价者确信干预措施利大于弊或弊大于利
弱	利弊不确定或无论高质量低质量的证据均显示利弊相当

表 2 生物实验文献证据质量与推荐强度分级

项目	具体描述
证据质量(分级)	
高(A)	可信程度高
中(B)	可信程度较高
一般(C)	可信程度一般
低(D)	可信程度较低
推荐强度	
强	评价者确信干预措施可以或不可以稳定重复实验结果
弱	评价者不确定干预措施可以或不可以稳定重复实验结果

一、消化系统常见恶性肿瘤类器官内镜取样适应证和伦理

1. 应用场景

陈述 1: 确诊或高度疑诊为消化系统恶性肿瘤,且需要进行后续化学治疗、放射治疗、靶向治疗、新辅助治疗,以及耐药、复发转移、罕见、超适应证和新药临床试验的患者,在无内镜检查与活检禁忌的情况下进行肿瘤类器官培养和治疗敏感性检测,以指导后续精准治疗方案制定。(证据质量:C;推荐强度:强;共识水平:100.0%)

消化系统恶性肿瘤是全球主要的癌症类型,其发病率和死亡率一直居高不下。对于无法通过内镜或外科手术根治的肿瘤以及具有高危复发和转移风险的肿瘤,需要接受包括化学治疗、靶向药物治疗等在内的药物治疗、放射治疗、新辅助治疗或免疫治疗。而对于治疗(药物、放射、免疫)的敏感性是实现满意临床治疗效果及预后的关键。PDO 保留了原始肿瘤的形态学、基因与转录全景、突变等生物学特征,这种现象在食管癌^[16-17]、胃癌^[18-20]、结直肠癌^[21],以及胰腺癌^[22]中均存在。

治疗前评价药物、放射与免疫治疗效果,类似抗菌药物敏感性检测,有助于预测患者治疗反应、改善预后、减少不良事件以及节约医疗资源。(1)目前,关于食管癌类器官的敏感性预测研究较少。Li 等^[16]仅报道了 6 例成功的食管腺癌 PDO,发现其药物敏感性与患者临床预后有较好一致性。



(2)针对胃癌,肿瘤类器官是药物筛选与实现个性化治疗的可靠方式^[19],有相对较多的报道。Steele等^[23]研究显示,PDO对表柔比星+奥沙利铂+5-氟尿嘧啶化疗方案的反应与患者临床效果一致。Zu等^[24]得到了相似的结论,且一致性在75%以上。胃癌PDO生物样本库还被用于部分新药或处于临床试验阶段的药物敏感性测试,但尚未获得临床验证^[18]。(3)结直肠癌的相关研究则更广泛。Ganesh等^[25]研究表明,7例直肠癌PDO对5-氟尿嘧啶和FOLFOX方案治疗的反应与患者临床治疗反应具有较高一致性。Yao等^[26]还发现,直肠癌PDO在预测进展期患者对新辅助放化疗反应方面的准确性可达84.43%。这一结果在随后的研究中也得到了验证^[27-28]。Kong等^[29]运用基于STRING数据库蛋白质相互作用网络的机器学习方法,成功识别出源自直肠癌PDO的生物标志,并准确预测了114例结直肠癌患者对5-氟尿嘧啶临床治疗反应。(4)胰腺癌方面,由于胰腺癌化疗的总体效果较差,因而筛选敏感药物至关重要^[30]。Grossman等^[31]对建立的12个胰腺癌PDO进行药物敏感性测试,发现不同PDO对同一药物的敏感性不同,同一PDO

对不同化疗药物的敏感性亦不同,但PDO反应与临床反应具有较好的一致性。Seppala等^[32]用12例胰腺癌PDO也得到了相似的结论。此外,小肠癌较为少见^[33]。目前,仅有极少数文献报道成功培养出十二指肠癌类器官,但尚缺乏临床治疗敏感性验证^[34]。

由此可见,肿瘤PDO具有较大的临床应用前景。但目前肿瘤类器官药敏试验局限于小样本、单中心研究,仍需大样本、前瞻性、规范化的对照研究来深入评价肿瘤类器官的临床预测效能。相较于放疗和无需经体内代谢的、直接作用于肿瘤细胞的化疗药物、靶向药物,类器官评价免疫治疗的应用尚处于临床前研究阶段^[35-36]。此外,目前的肿瘤类器官体系尚无法评价抗肿瘤血管生成的靶向药物。鉴于此,本共识暂未进行推荐。未来,免疫细胞共培养和微流控培养体系或可解决这一问题^[37-40]。

最后,经内镜类器官培养样本取样需要满足一般内镜检查适应证。鉴于活检钳取样和穿刺取样均为有创操作,具有严重出血倾向的患者应视为禁忌。对于正在服用抗血小板药物或抗凝药物的患者,应根据内镜操作风险和患者

表3 中国经内镜消化系统常见恶性肿瘤组织取样及类器官培养专家共识陈述汇总

专家共识陈述	证据质量	推荐强度	共识水平
陈述1:确诊或高度疑诊为消化系统恶性肿瘤,且需要进行后续化学治疗、放射治疗、靶向治疗、新辅助治疗,以及耐药、复发转移、罕见、超适应证和新药临床试验的患者,在无内镜检查与活检禁忌的情况下进行肿瘤类器官培养和治疗敏感性检测,以指导后续精准治疗方案制定。	C	强	100.0%
陈述2:类器官样本的采集、培养、保存、治疗敏感试验及其临床应用需获得所在机构伦理委员会的严格审查和批准,以及患者书面知情同意,充分保障患者的知情同意权利及合法权益。	D	强	100.0%
陈述3:按照胃肠镜检查的一般要求进行消化道准备,常规使用祛泡剂,并在上消化道检查前使用黏液溶解剂,需尽量移除管腔内残余的食物、粪便与液体,以及肿瘤表面的附着物。	C	强	100.0%
陈述4:针对食管、胃、结直肠等肿瘤,尽量选择肿瘤实体部位进行取样,对于存在异质性的病变,应在全面观察的基础上多点取样:(1)隆起型病变,于病变顶部或侧缘表现为充血、糜烂、凹凸不平部位取样;(2)溃疡型病变,于溃疡边缘隆起部位取样;(3)弥漫浸润型病变,于黏膜充血、肿胀、糜烂、溃疡、凹陷等病变显著的部位取样。针对胰腺肿瘤,应于肿瘤内部实体部分取样,根据具体情况可对胰腺癌转移灶进行补充取样。	D	弱	100.0%
陈述5:对食管、胃、结直肠等肿瘤,可根据肿瘤生长方式选择深挖或多点采样的活检方式;对胰腺癌优先采用内镜超声引导下细针穿刺活检术(endoscopic ultrasound-guided fine needle biopsy, EUS-FNB)取样,无FNB条件时可采用内镜超声引导下细针穿刺抽吸术(endoscopic ultrasound-guided fine needle aspiration, EUS-FNA)。	B	强	100.0%
陈述6:针对食管、胃、结直肠等肿瘤取样,推荐使用适配各单位常用内镜工作通道参数的最大规格一次性活检钳。	C	强	100.0%
陈述7:针对胰腺癌取样,推荐根据病灶部位、大小、操作难易程度和安全性选择19G或22G穿刺针进行EUS-FNB取样;若FNB无法进行,可考虑EUS-FNA取样。	B	强	96.7%
陈述8:针对食管、胃、结直肠癌取样,应至少取3块2~3mm大小富含肿瘤细胞的组织块。	C	强	100.0%
陈述9:针对胰腺癌取样,推荐使用FNB/FNA获取1~2条足量组织条,先常规进行宏观现场评估(macroscopic on-site evaluation, MOSE),选择高质量核心组织条,并在有条件情况下考虑进行快速现场评估(rapid on-site evaluations, ROSEs)明确诊断。	B	强	96.6%
陈述10:按要求采集富含肿瘤细胞的新鲜组织样本,食管、胃和结直肠等肿瘤样本采用组织清洗液清洗后尽快放入组织保存液中,而胰腺癌样本经MOSE挑选后直接放于组织保存液中;样本须4℃低温保存、快速转运,确保样本安全、准确、及时送达实验室。	A	强	100.0%
陈述11:样本送达实验室后,应由样本接收人员确认样本是否符合要求、信息是否完整准确,并对符合要求的样本按照标准操作规程进行清洗、细胞解离和种胶等操作。	D	强	100.0%
陈述12:消化系统恶性肿瘤类器官培养应严格按照培养流程对内镜获取的食管、胃和结直肠等肿瘤样本进行清洗、剪切、消化和过滤,而后依次加入基质胶和适量相应组织类型的类器官培养基,并于培养箱(37℃, 5% CO ₂)中进行培养,而胰腺癌样本不建议进行消化,通常以切碎组织进行培养。	B	强	100.0%
陈述13:培养初期,应每日于显微镜下观察类器官是否有微生物污染,并记录类器官生长及形成情况。如出现不可控的微生物污染和(或)无类器官形成等情况,建议终止培养。	A	强	100.0%
陈述14:组织病理学可作为类器官鉴定的常规手段,同时可根据实际需求选择免疫荧光、基因检测等其他鉴定方式,以保证后续类器官治疗敏感性检测结果的可信度。	A	强	100.0%
陈述15:将经过鉴定的类器官接种于多孔板中,加入相应药物,至少设置3个复孔,并同时设置阴性对照,读取药物处理后的类器官活性值,计算并预测药物的敏感性。报告内容应包括患者信息、类器官培养情况和药物处理后的结果。	A	强	100.0%



血栓栓塞风险等级,在咨询相关专科后选择是否停用部分或全部抗血小板或抗凝药物^[41-43]。

2. 伦理与知情同意

陈述 2:类器官样本的采集、培养、保存、治疗敏感试验及其临床应用需获得所在机构伦理委员会的严格审查和批准,以及患者书面知情同意,充分保障患者的知情同意权利及合法权益。(证据质量:D;推荐强度:强;共识水平:100.0%)

国家药品监督管理局药品审评中心在 2021 年发布了《基因治疗产品非临床研究评价技术指导原则(试行)》与《基因修饰细胞治疗产品非临床研究技术指导原则(试行)》,指出类器官可作为动物替代性模型进行药理试验^[44-45]。但由于国内尚无明确关于人源类器官样本库建立及类器官临床应用的法律、法规,因此,全周期、全流程应用应受到各级伦理委员会的审查和监督^[46-48]。审查的目的主要有两方面;其一是保障患者(供者)对采样、类器官培养、敏感性检测、所得数据用途,以及样本处理等相关事宜的知情和同意权利^[49],其二是保障国家生物样本及信息安全。建议各单位为此类适应证统一申请伦理。虽然暂无统一的知情同意书模板,但各单位在拟定文书时,应使用规范的、通俗易懂的语言详细阐明类器官构建平台或机构、构建失败风险、敏感性检测对象(药物、放射等)及其结果解读与局限、样本用途与数据安全、检测所需时间、费用、构建失败后再次取样以及检测后样本处置等^[50-51]。临床医师应结合敏感性检测结果与患者实际情况,综合考虑并与患方协商后拟定下一步治疗方案^[51]。

二、消化系统常见恶性肿瘤类器官内镜取样

1. 取样前消化道准备

陈述 3:按照胃肠镜检查的一般要求进行消化道准备,常规使用祛泡剂,并在上消化道检查前使用黏液溶解剂,需尽量移除管腔内残余的食物、粪便与液体,以及肿瘤表面的附着物。(证据质量:C;推荐强度:强;共识水平:100.0%)

消化道准备的目的在于充分暴露肿瘤、穿刺或活检部位和降低类器官污染风险。由于消化道管腔并不是一个无菌的环境,尽可能创造一个相对清洁的环境对降低类器官污染有较大的意义。食物残留和白苔附着可增加类器官真菌(如酵母菌、假丝酵母菌等)污染的风险,且白苔越厚,污染的概率越高^[52],且此种情况下获取的样本在培养过程中也难以用抗生素清除真菌。基于此,高质量的消化道准备是必要的。检查前除需尽量移除管腔内肉眼可见的食物、粪便及浑浊液体,还需尽量冲洗掉附着在肿瘤表面的残渣、黏液及白苔,充分暴露肿瘤组织。针对无梗阻的结直肠肿瘤,建议患者在检查前 24 h 进行低渣或低纤维饮食,并按照消化内镜诊疗相关肠道准备的指南与共识意见清洁肠道^[53-54];针对伴有梗阻的结直肠肿瘤,则建议尝试清洁灌肠。建议常规使用祛泡剂,并在上消化道检查时使用黏液溶解剂^[54-55]。可使用波士顿肠道评分量表和人工智能评分

系统辅助肠道准备质量的评估,肿瘤所在肠段的清洁程度应达到波士顿评分 2 分及以上^[56]。

2. 取样部位

陈述 4:针对食管、胃、结直肠等肿瘤,尽量选择肿瘤实体部位进行取样,对于存在异质性的病变,应在全面观察的基础上多点取样:(1)隆起型病变,于病变顶部或侧缘表现为充血、糜烂、凹凸不平等部位取样;(2)溃疡型病变,于溃疡边缘隆起部位取样;(3)弥漫浸润型病变,于黏膜充血、肿胀、糜烂、溃疡、凹陷等病变显著的部位取样。针对胰腺肿瘤,应于肿瘤内部实体部分取样,根据具体情况可对胰腺癌转移灶进行补充取样。(证据质量:D;推荐强度:弱;共识水平:100.0%)

鉴于进展期肿瘤的生长特性,取材部位决定活检样本中有效肿瘤细胞的数量。为提高类器官培养的成功率,不同形态的病变有不同的活检区域要求^[57]。由于可能导致肿瘤组织获取不充分,并出现正常组织“污染”的情况,隆起型病变应避免在蒂部或基底部分与正常组织交界处取样。溃疡型肿瘤边缘的活检较少受到真菌污染^[52],应尽量于溃疡堤的偏内侧取样。弥漫浸润性病变,往往存在肿瘤暴露不充分的可能,应尽量选择有明显形态异常的部位,如充血、肿胀、糜烂、溃疡和凹陷的部位取样,必要时可结合放大内镜寻找有肿瘤特征的区域。由于肿瘤存在异质性^[58],单一部位取样可能无法真实反映肿瘤的特性。因此,对于疑似存在异质性的病变,应进行全面、仔细地观察,并针对性地进行多点取样。针对胰腺癌,目前尚无指南共识推荐特定的采样区域,一般位于肿瘤内部实体部分,并尽量避开坏死、囊性病变区域。此外,部分胰腺癌转移灶(如肝转移)与原发病灶存在一定异质性^[59]。针对此类转移灶,若在超声内镜(endoscopic ultrasonography, EUS)可及范围内,可进行补充取样,以更全面地评价肿瘤治疗敏感性。

3. 取样方式

陈述 5:对食管、胃、结直肠等肿瘤,可根据肿瘤生长方式选择深挖或多点采样的活检方式;对胰腺癌优先采用内镜超声引导下细针穿刺活检术(endoscopic ultrasound-guided fine needle biopsy, EUS-FNB)取样,无 FNB 条件时可采用内镜超声引导下细针穿刺抽吸术(endoscopic ultrasound-guided fine needle aspiration, EUS-FNA)。(证据质量:B;推荐强度:强;共识水平:100.0%)

消化道肿瘤组织表面往往覆盖有坏死组织、增生的结缔组织,甚至正常黏膜上皮。因而,仅在表面取样不易获取足够的肿瘤组织,甚至不能获取肿瘤组织。深挖活检是获取深部组织的一种较好的方式,尤其适用于腔内生长的肿瘤。但针对弥漫浸润性病变,该方式有造成穿孔的风险,故取样时仍需把握深度与力度,减少穿孔发生的风险,必要时可借助超声内镜评估肿瘤浸润深度或进行多点采样。取样时,应尽量在正镜模式下,保持活检钳垂直于待取病变,便于力量的传导(图 1A)。若正镜模式下,病变位于切线方



向,可翻转镜身,在倒镜模式下取样。为获取更大、更深的组织样本,既往还报道过多种消化道活检方法以外的技巧,如隧道法(tunnel biopsy)、转吸法(turn and suction)^[60]、撕脱法(strip biopsy)^[61]和提切法(lift and cut)^[62]等。

EUS-FNB/FNA 对胰腺癌的诊断均有较高的敏感度(85%~93%)与特异度(96%~100%)^[63-65],且两者诊断效能相似(FNB略优)^[66],一般指南对两种方式均有推荐^[67]。但从获取样本的数量和质量上比较,FNB具有较大的优势^[68]。一项随机对照研究显示,FNB可获取比FNA更多的样本(5.2 mm²比1.9 mm², $P<0.001$)^[69]。因此,建议有条件的单位优先选用FNB。除了取样方式,取样技巧也影响样本的质与量。一项荟萃分析显示,慢拉法(slow pull)、干抽法(dry suction)与改良湿抽法(modified wet suction)均比非抽吸方法获取更多的样本,且三者之间获取的样本量相似;而改良湿抽法相较于干抽法可以获取更完整的样本($RR=1.36$,95% CI :1.06~1.75)^[70]。EUS穿刺见图1B、1C。

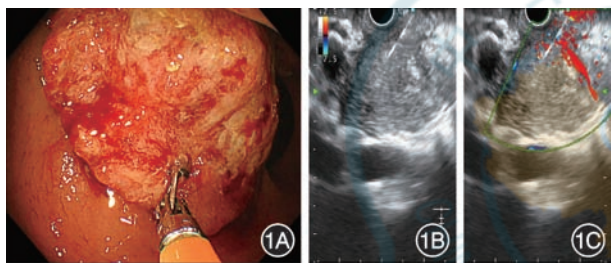


图1 消化系统恶性肿瘤经内镜活检示例 1A:活检钳与取样部位垂直,并紧实地抵住病变;1B:胰腺恶性肿瘤超声穿刺无血流信号;1C:胰腺恶性肿瘤超声穿刺有血流信号,白色箭头指示穿刺针进入肿瘤实质部分

4. 取样器材

陈述6:针对食管、胃、结直肠等肿瘤取样,推荐使用适配各单位常用内镜工作通道参数的最大规格一次性活检钳。(证据质量:C;推荐强度:强;共识水平:100.0%)

取样器材的型号与规格是决定样本大小与取材深度的直接因素。活检钳钳头容积越大(主要体现在钳头长度与直径),采集的样本体积越大^[71-72]。齿状钳头有助于获取更深层的组织^[73],并且带齿的钳头获取的样本体积要大于卵圆形活检钳^[74]。钳头是否带针对获取的组织量影响不显著^[73],但带针是否有助于获取更深层的组织却存在争议^[71, 73, 75]。既往研究中使用过多种参数的活检钳,包括带侧孔活检钳、卵圆形(带针)活检钳、带齿鳄鱼口(带针)活检钳、成角(80°)活检钳、子弹头活检钳;钳头长度有2.2、2.3、3.0、3.1、3.3、3.7、4.0 mm,钳头直径有2.0、2.2、2.3、2.4、2.8 mm等规格^[71, 73-76]。但由于研究时间跨度大,部分规格活检钳与现行产品不同。在满足适配各单位内镜工作通道大小的前提下,使用能获取的最大规格活检钳。

此外,取样前应仔细甄别肿瘤组织与坏死组织和结缔组织。若需更更换取样部位,建议更换活检钳或清理活检钳表面的残余组织,以尽量减少对活性肿瘤组织的获取。

陈述7:针对胰腺癌取样,推荐根据病灶部位、大小、操作难易程度和安全性选择19G或22G穿刺针进行EUS-FNB取样;若FNB无法进行,可考虑EUS-FNA取样。(证据质量:B;推荐强度:强;共识水平:96.7%)

2018年,Tiriac等^[77]使用22G活检针,采用“扇面穿刺”“慢拉”技术行FNB,获得组织培养2周内可得到原代类器官,获得P0和P5类器官的成功率分别为87%(33/38)与66%(25/38),并且FNB获取的组织与外科获取的组织培养得到的类器官的各类特性是相匹配的。2021年,Lee等^[78]报道仅使用19G或22G穿刺针,用FNA方法单次穿刺获取胰腺样本进行类器官培养,获得P0和P5类器官的成功率分别为70%(14/20)与60%(12/20),且类器官与活检样本经全基因组测序显示有93%的同源性。2022年,Ikezawa等^[79]报道了1例采用25G穿刺针行EUS-FNA,但未能成功培养出类器官。而Ishida等^[80]研究显示,25G穿刺针获得组织性类器官培养成功率有80%(8/10),22G穿刺针的成功率为57%(16/28)。目前尚缺乏大样本研究对比FNA与FNB,以及不同型号穿刺针获取组织培养类器官的成功率,但从技术上讲,FNA与FNB在完成诊断时所需的穿刺次数、有效诊断率、操作失败率以及并发症方面均无显著差异^[81]。一项网状荟萃分析也显示,22G FNB并不优于22G FNA($RR=1.03$,95% CI :0.89~1.18),且该结论同样适用于25G FNB与25G FNA($RR=1.05$,95% CI :0.82~1.33)^[82]。另一项荟萃分析显示,针对肿瘤诊断的准确性和获取的样本量,穿刺针的粗细(19G、22G和25G)并无显著影响^[82]。目前,临床常用的是22G穿刺针^[83]。虽然19G针在获取样本方面有一定优势,但其在穿刺胰头和钩突病变时存在困难,失败率较高^[84-85]。25G针则对钩突病变有相对的诊断优势^[86]。因此,在操作条件允许的情况下,为获取更多核心组织,可选择更粗的穿刺针。

5. 样本大小与数量

陈述8:针对食管、胃、结直肠等肿瘤取样,应至少取3块2~3 mm大小富含肿瘤细胞的组织块。(证据质量:C;推荐强度:强;共识水平:100.0%)

消化系统恶性肿瘤类器官培养的细胞来源主要为外科手术切除样本、内镜活检样本以及穿刺样本。相对而言,内镜活检获取的样本量要少于外科手术获取的样本量,但两者最终培养出的类器官质与量差异不显著^[87]。不少研究均显示,用活检钳通过胃肠镜获取的样本成功培养出了食管癌^[88-93]、胃癌^[94-95]及结直肠癌^[34, 87, 96-97]类器官。但多数研究并未提及培养所需活检样本的数量与大小。Zhang等^[88]注明使用了2~4块活检组织,Derouet等^[90]记录了每块活检组织体积约0.5 mm³。一般常规标准的活检钳(钳头直径2.2~2.3 mm,长度3.0 mm)获取的组织大小为2.0~3.0 mm³^[71]。根据既往经验,一般活检钳获取的肿瘤组织经消化后所得细胞量在10³水平^[98]。文献显示,为保障类器官培养,经消化得到的细胞量应至少在10⁴以上^[99]。因而样本越多,类器官培养的质量更有保障^[100]。

陈述9:针对胰腺癌取样,推荐使用FNB/FNA获取1~2条足量组织条,先常规进行宏观现场评估(macroscopic on-site evaluation, MOSE),选择高质量核心组织条,并在有条件情况下考虑进行快速现场评估(rapid on-site evaluations, ROSEs)明确诊断。(证据质量:B;推荐强度:强;共识水平:96.6%)

当EUS-FNB/FNA用于诊断时,FNB与FNA分别穿刺2~3针与3~4针即可获得较满意的诊断效能^[67],且额外增加穿刺针数并无额外诊断获益^[101]。Tiriac等^[77]用FNB取1~2根足量组织条进行类器官培养,并在FNB之前先用FNA穿刺行ROSE明确胰腺癌诊断,以及确认组织量是否足够,最终类器官的成功率为87%(33/38)。Ishida等^[80]则先用1条FNB组织的一部分行ROSE,再用剩余的样本进行类器官培养,最终培养成功率为63.2%(24/38)。考虑ROSE对操作医师的病理知识水平要求较高,不易在基层推广,可先常规应用MOSE选取高质量的核心组织条。研究显示,MOSE可以协助获得较高的诊断准确率,达97.3%~98%^[102-103]。经荟萃分析,MOSE的总体诊断准确率为91.3%(95% CI: 88.6%~93.3%)^[104]。一项多中心随机对照研究也证实,相较于传统EUS-FNB,MOSE可获得相似的组织量和诊断效能,且所需穿刺针数更少^[105]。而MOSE与ROSE相比,两者诊断准确率(97.42%比96.78%)差异无统计学意义^[106]。但尚无研究对比有无MOSE或ROSE对穿刺数量及最终类器官培养成功率的影响。不论是单次还是多次穿刺,不同研究者均展示可以成功培养出类器官。Lacomb等^[107]经过对照研究,发现用22G活检针穿刺1次和2次获取的样本,最终培养得到的P0类器官的成功率分别为88%与81%($P=0.52$),得到P5类器官的成功率分别为76%与60%($P=0.33$)。另有研究使用单次FNB穿刺获得组织量的一半来培养类器官,成功率仅有54.4%^[108]。需要注意的是,增加穿刺次数有潜在增加并发症的风险。

三、样本存储与运输

陈述10:按要求采集富含肿瘤细胞的新鲜组织样本,食管、胃和结直肠等肿瘤样本采用组织清洗液清洗后尽快放入组织保存液中,而胰腺癌样本经MOSE挑选后直接放于组织保存液中;样本须4℃低温保存、快速转运,确保样本安全、准确、及时送达实验室。(证据质量:A;推荐强度:强;共识水平:100.0%)

肿瘤组织质量的好坏直接影响类器官培养的成功率^[50]。患者肿瘤组织样本采集通常在医疗机构进行,然后送至实验室进行类器官培养及药物敏感性检测。因此,除样本采集外,样本离体后的存储与运输也是影响类器官培养是否成功的重要因素^[109-110]。

对于内镜下采集污染风险较大的消化道肿瘤样本,应提前准备包含50 mL组织清洗液、50 mL组织保存液、一次性无菌镊子、带标签的样本运输带及封口膜的种类器官保存液套装;对于内镜下采集有效成分易流失的胰腺癌样本时,应提前准备包含15 mL组织保存液、一次性无菌镊子、带标签的样本运输带及封口膜的种类器官保存液套装。保存液需放置于

2~8℃冰箱中保存,保存期间切勿随意打开,其中组织清洗液和组织保存液主要包含保存细胞活性及抑菌的成分。

取样前,检查组织保存液是否过期、漏液以及有无变色或浑浊。于无菌条件下打开组织保存液,并尽量缩短其在空气中的暴露时间。对于采集污染风险较大的食管癌、胃癌和结直肠癌样本,应先用无菌镊将其放入组织清洗液中适当清洗,然后取出并放于组织保存液中;对于采集有效成分易流失的胰腺癌样本,经MOSE挑选核心组织条后直接放于组织保存液中,以减少血液污染。确保样本组织完全浸泡于液体后,立即旋紧管盖,并用封口膜将管盖和管颈的缝隙密封。注意样本离体后应尽快放入组织保存液中。样本在环境中暴露时间越长,活性越低,受污染的风险也越高。组织样本在保存液中的正确保存方式见图2。

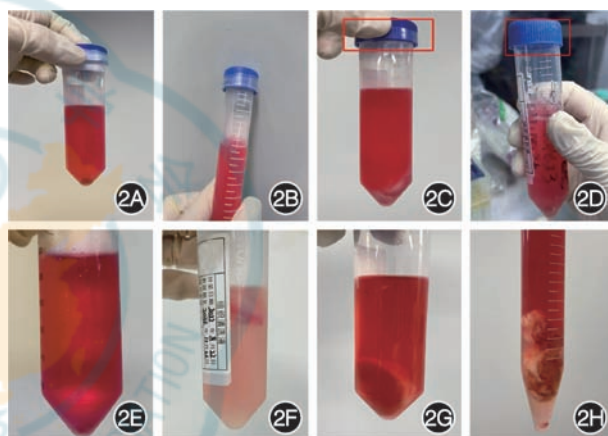


图2 组织样本保存在保存液中,用封口膜密封保存液管盖 2A:正确;2B:错误(未缠封口膜);2C:正确(拧紧保存液管盖);2D:错误(管盖未拧紧);2E:正确(样本取出后将其放入红色保存液中);2F:错误(放入清洗液中);2G:正确(组织样本较大时,应放入含有保存液的50 mL离心管中);2H:错误(组织样本较大时,放入15 mL离心管中)

最后,在样本运输袋的标签上注明患者姓名、医疗机构、住院号、肿瘤类型、肿瘤分期、既往接受的抗肿瘤治疗,以及取样部位、取样方法、样本离体时间、送检目的等信息,将含样本的收集管放入样本运输袋中密封好。等待取样期间,将含样本的运输袋暂存于2~8℃冰箱或放有冰袋的保温冷藏箱中。样本寄送采用专业冷链运输,4℃低温保存、快速转运,确保样本安全、准确、及时送达实验室。样本离体时间会影响细胞活性,从而影响培养效果。文献报道,样本采集后应尽快将其置于冰冷的磷酸盐缓冲液中,并于24 h内冷链运送至实验室^[77, 111]。若样本质量不能满足类器官培养,应及时向医师反馈,必要时与患者沟通重新取样。

四、消化系统常见恶性肿瘤类器官培养

1. 预处理

陈述11:样本送达实验室后,应由样本接收人员确认样本是否符合要求、信息是否完整准确,并对符合要求的样本按照标准操作规程进行清洗、细胞解离和种胶等操作。(证据质量:D;推荐强度:强;共识水平:100.0%)



经冷链运输的样本到达实验室后,样本接收人员应首先检查和确认运输包装是否完好无损、到达时温度是否符合要求、样本标签信息是否完整、是否存在漏液等情况,然后初步评估样本重量与质量,包括细胞占比、预处理后细胞活性、类器官是否形成以及是否有污染等。接收后,应赋予每例样本唯一的编号。

经专业培训的操作人员,按照标准操作规程对内镜获取样本进行清洗、细胞解离和种胶等操作,每日观察培养状态,以确定样本是否存在污染、类器官是否形成等^[112]。但需注意,对于存在包装破损、漏液等污染风险较高的样本,实验室操作人员应在预处理前对样本进行防污染处理。

2. 类器官构建与培养

陈述 12: 消化系统恶性肿瘤类器官培养应严格按照培养流程对内镜获取的食管、胃和结直肠等肿瘤样本进行清洗、剪切、消化和过滤,而后依次加入基质胶和适量相应组织类型的类器官培养基,并于培养箱(37 °C, 5% CO₂)中进行培养,而胰腺癌样本不建议进行消化,通常以切碎组织进行培养。(证据质量: B; 推荐强度: 强; 共识水平: 100.0%)

(1)操作前准备:将基质胶放置于冰上,并将其置于2~8 °C冰箱进行解冻;将消化液放于37 °C预热,Dulbecco磷酸盐缓冲溶液(无Ca²⁺、Mg²⁺)和清洗液放于冰上预冷;最后,将完全培养基预热至室温,多孔板如6孔板、24孔板等放于37 °C培养箱预热至少2 h。

(2)组织清洗及剪碎:将样本组织置于培养皿中,用组织清洗液进行清洗,并将清洗好的组织转移至1.5 mL离心管中,用无菌剪刀剪碎,尽可能剔除肿瘤组织中的血管、脂肪和坏死组织。然后,将剪碎的组织转移至15 mL离心管中,并用1 mL组织消化液清洗1.5 mL离心管,将管内混悬液转移至15 mL离心管中。

(3)酶解消化、过滤和清洗:向15 mL离心管中加入3 mL组织消化液,放于37 °C恒温振荡仪中消化30 min(阶梯法,不同癌种或样本视实际情况进行调整),吸取消化后上清至另一15 mL/50 mL离心管中置于冰上暂存。消化结束后,向组织碎片中加入3~5 mL清洗液洗涤3次,并用1 mL移液器吸头用力上下吹打10~20次,注意避免吸头接触到试管,静置以使碎片自然沉降,然后用1 mL移液器吸头将上清转移至消化上清中。将混合后的上清以300 g(根据细胞类型进行调整)离心5 min,弃上清,保留沉淀。同时通过100 μm细胞滤网用1 mL移液器转移组织碎片,并将滤过物收集在15 mL离心管中,用清洗液重新清洗旧管,过滤

并将过滤物300 g离心5 min,弃上清,保留沉淀。向上述细胞沉淀中加入3 mL清洗液吹打混匀,300 g离心5 min,弃上清,保留沉淀。最后对获得的细胞进行技术和活性鉴定,建议当细胞数量大于10⁴,且细胞存活率大于90%时,认为组织消化合格。

(4)种胶:根据沉淀物量加入基质胶,混匀后用移液器吸取细胞和基质胶混悬液加到多孔板中,形成半球型液滴,避免移液器吸头触碰孔底,以便点胶形成半圆形结构。将多孔板放置于37 °C培养箱中15 min以使基质胶充分凝固,保持稳定,尽量不要晃动。

(5)培养:沿多孔板侧壁加入适量相应组织类型的类器官培养基,如6孔板每孔2 mL、24孔板每孔500 μL,切勿直接滴加在基质胶滴上。显微镜下观察基质胶中的细胞状态和聚集程度后,将多孔板放入培养箱(37 °C, 5% CO₂)中培养。根据类器官生长情况,每2~3天换液1次^[94, 112]。

(6)传代、冻存和复苏:根据类器官生长情况,按照1:1~1:3进行传代。类器官冻存:收集培养好的类器官,加入细胞冻存液,混匀后分装于冻存管中,确保每管包含2 000~4 000个类器官。然后,将冻存管放置于-80 °C进行程序降温,并放于液氮中长期储存。类器官复苏:从液氮罐中取出冻存类器官,放入37 °C水浴锅中快速解冻,在超净台内快速将解冻的类器官转移至含有DMEM/F12培养基的离心管内,离心收集沉淀,使用基质胶重悬并接种至多孔板内。

需要注意的是,内镜下胰腺癌样本不建议进行消化,通常以切碎组织进行培养。若红细胞较多,可在切碎后使用红细胞裂解液裂红,然后再做培养。研究发现,通过超声内镜引导取样收集的胰腺癌组织样本由于手术期间样本吸入,通常会被大量红细胞污染,因此需要用红细胞裂解液处理样本以消除红细胞^[113-115]。类器官培养流程图见图3。

3. 类器官生长状态评估

陈述 13: 培养初期,应每日于显微镜下观察类器官是否有微生物污染,并记录类器官生长及形成情况,如出现不可控的微生物污染和(或)无类器官形成等情况,建议终止培养。(证据质量: A; 推荐强度: 强; 共识水平: 100.0%)

类器官的生长状态与其是否能成功分离,以及是否能成功行药物敏感性检测密切相关^[77, 116]。培养初期,应每日于显微镜下观察是否有细菌、真菌污染,并记录类器官生长及形成情况。若怀疑支原体感染,需进行支原体检测。常见的污染可能来自实验环境、人员操作,以及样本自身(如消化道来源)(图4)。若初期出现细菌污染,可采用细胞清

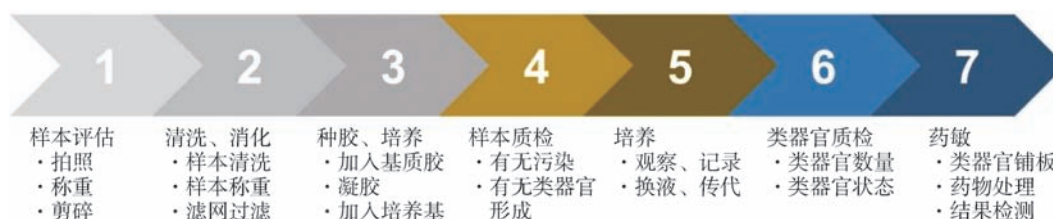


图3 类器官培养及药敏试验流程图



洗液进行清洗;若清洗无效,污染持续爆发,建议将该样本(已形成的类器官)按照医疗废物进行处理。

通常,若 1 周内可见类器官呈典型囊状、实心球状或弥散状等基本形态,2 周内可见快速生长趋势,则表明类器官生长状态良好^[117]。此外,应严格把控类器官扩增时机,通常 3 周内可传代扩增,但具体取决于培养密度及生长速度。类器官生长速度与组织来源部位、个体差异、既往治疗等相关,可通过类器官数量和活性状态判断是否可进行传代。类器官的衰老和凋亡会影响传代后类器官的存活率和生长状态^[50]。通常采用酶消化法或机械法进行类器官传代,并于显微镜下密切观察其变化,适时终止消化。若 2~3 d 后可见类器官基本形态再次形成,且有明显生长趋势,则表明传代后的类器官生长状态良好。若存在无类器官生长的情况,应按医疗废物进行处理。图 5 展示了经胃镜活检获取的胃癌组织样本培养的类器官在不同时间点的生长状态。

4. 类器官鉴定

陈述 14:组织病理学可作为类器官鉴定的常规手段,同时可根据实际需求选择免疫荧光、基因检测等其他鉴定方式,以保证后续类器官治疗敏感性检测结果的可信度。

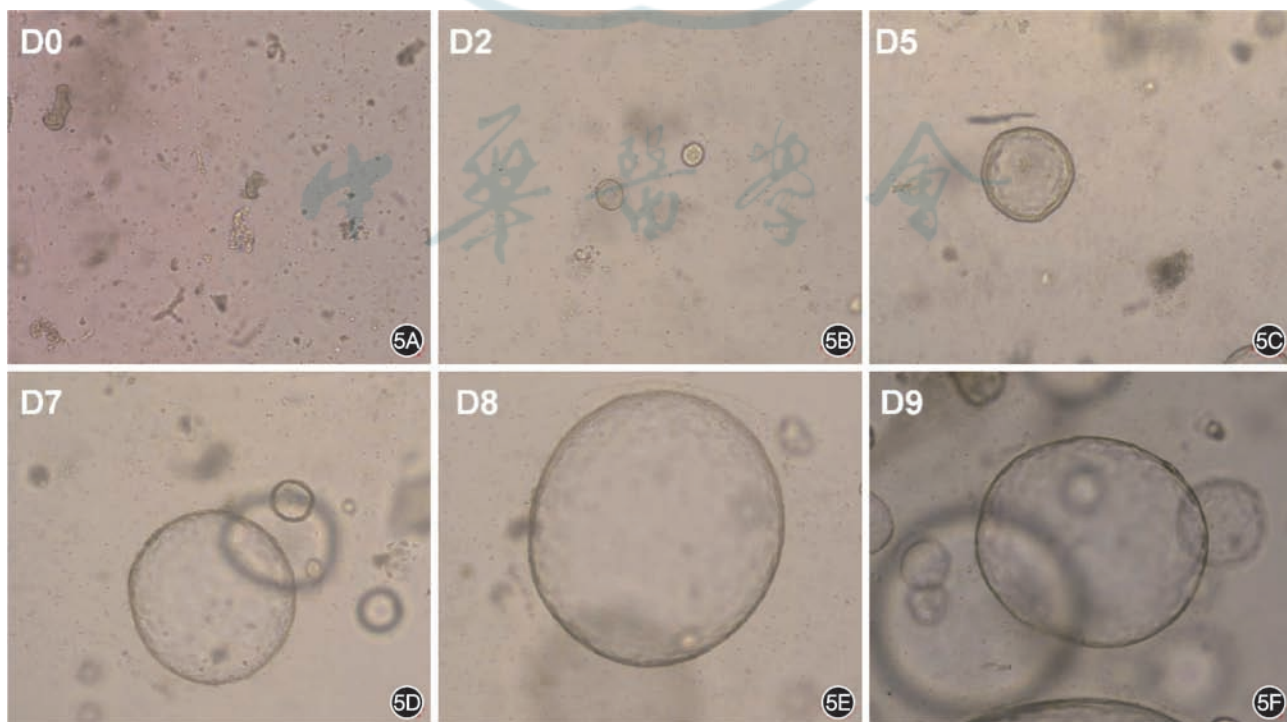
(证据质量:A;推荐强度:强;共识水平:100.0%)

类器官鉴定是进行药物敏感性检测的重要前提,可从形态学、组织病理学、分子遗传学等多个维度进行。组织病理学可作为常规鉴定手段,同时根据情况可选择免疫荧光、基因检测等其他鉴定方式^[116, 118]。HE 染色和免疫组织化学法具有时效快、成本低、普及性高的优势,可满足类器官药物敏感性检测对时效性的要求。用类器官回收液尽可能去除基质胶,收集培养好的类器官。通过预冷的磷酸盐缓冲液清洗后,依次进行 4% 多聚甲醛固定、脱水、石蜡包埋和切片,根据需求进行 HE 染色和/或免疫组织化学分析。在进



注:红色箭头指示微生物

图 4 培养期间受污染的类器官 4A:胶内菌落;4B:细菌;4C:真菌



注:D加数字为培养天数

图 5 胃癌经内镜取样不同时间点的类器官生长状态



行类器官鉴定时,需注意应最大程度地确保类器官的完整性及纯度。比如,在分散类器官时应采用剪切移液器吸嘴或阔口移液器吸嘴,以避免破坏类器官结构。培养良好的类器官除在 HE 染色上具有与原始肿瘤组织一致的形态学表型外,也应表达与原始肿瘤一致的重要标志物,如胃癌标志物 LGR5^[94]、结直肠癌标志物 CDX-2、CK7 等^[26, 111]。近年来, Wang 等^[119]对体内组织和体外类器官进行了肿瘤特异性表达基因 *CEACAM6* 的免疫荧光染色,发现 *CEACAM6* 仅在体内肿瘤细胞中高表达,而在癌旁正常肠上皮细胞中不表达,但体外培养的肿瘤类器官却高表达 *CEACAM6*,且与单细胞转录组测序结果一致,进一步验证了体外培养的肿瘤类器官具有与肿瘤细胞相似的基因表达特征。

与组织病理学相比,基因检测在类器官鉴定方面具有更高的精准度,已被推荐用于肿瘤类器官的基础及转化研究。通过获得肿瘤的基因表达谱,我们可更好地捕获肿瘤内及肿瘤间的异质性。这不仅有助于类器官药物敏感性检测中靶向药物疗效的分析,亦有助于类器官样本库的建立和完善。Seppälä 等^[120]通过对早期类器官培养过程中突变谱的纵向分析,发现 *KRAS* 突变的广泛存在证实了培养类器官的确来源于胰腺恶性肿瘤。基于食管腺癌建立的类器官研究表明,类器官不仅与原组织在组织学上具有相似性,且在驱动体细胞突变事件和全基因组突变特征上也具有一致性,包括 *p53*、*PIK3CA* 和 *CDKN2A* 突变^[16, 121-122]。还有研究采用单核苷酸多态性/短串联重复序列 (single-nucleotide polymorphism/short tandem repeats, SNP/STR) 分析^[99],以及微滴式数字 PCR (digital-droplet PCR, ddPCR) 评价拷贝数变异来验证类器官与亲本组织的一致性^[111]。然而,基因检测存在滞后性及普及性欠佳等问题,故暂不推荐其作为类器官药物敏感性检测中的常规鉴定手段。

5. 药物敏感性检测

陈述 15: 将经过鉴定的类器官接种于多孔板中,加入相应药物,至少设置 3 个复孔,并同时设置阴性对照,读取药物处理后的类器官活性值,计算并预测药物的敏感性。报告内容应包括患者信息、类器官培养情况和药物处理后的结果。(证据质量:A;推荐强度:强;共识水平:100.0%)

作为目前前沿的体外检测技术,肿瘤类器官药物敏感性检测具有药物筛选通量高、预测效果准、出具报告时间短等优点^[50, 123]。近年来,大量研究已证实,基于肿瘤类器官药物敏感性检测在预测包括食管癌、胃癌、胰腺癌、结直肠癌在内的不同消化道肿瘤方面的总敏感性和特异性分别达 84% 和 81%^[16, 23, 26, 118, 124-126]。

消化系统恶性肿瘤类器官药物性敏感检测的具体流程如下:(1)吸去培养孔板中的培养液,加入适量类器官消化液 TrypLE,上下吹吸培养板中的培养液以破坏基质胶后,置于 37 °C 消化 5~10 min 直至类器官细胞团消化成单细胞。(2)4 °C 条件下 300 g 离心 5 min 后,根据细胞沉淀大小决定重悬使用的 DMEM 量,并取 10 μL 重悬液进行计数。同时

根据所需检测药物数量计算所需类器官数量,吸取相应培养基悬液于 4 °C 条件下,300 g 离心 5 min。(3)加入计算好的类器官培养基和基质胶,将混悬液接种于 96 孔板或 384 孔板中,然后将接种有类器官的 96 孔板或 384 孔板放置于 37 °C 培养箱中培养。培养 24 h 后,加入事先配好的药物溶液,继续放入 37 °C、5% CO₂ 培养箱中培养 48~72 h。(4)采用 ATP 生物发光方法或 CCK-8 法对类器官活细胞数目进行定量检测。

类器官的药物敏感性分析不仅可用于化疗药物、靶向药物等的药敏检测,还可以用于放疗敏感性分析。近年来,相继有研究报道了肿瘤类器官对 PD-1/PD-L1 免疫治疗药物的药敏分析,肿瘤类器官与免疫细胞共培养技术也进入研发测试阶段^[127-130]。随着类器官研究的不断深入和进步,未来有或可实现抗血管生成药物和免疫治疗药物的药敏分析,以进一步指导临床精准治疗。

执笔: 张宇航、叶连松、袁湘蕾、杨佳晨、周诺亚、刘岑芹 (四川大学华西医院消化内科)

参与制定本共识意见的专家 (按姓名汉语拼音排序): 陈崇 (四川大学生物治疗国家重点实验室), 陈丰霖 (福建医科大学附属协和医院消化内科), 陈磊 (陆军军医大学第一附属医院消化内科), 陈卫刚 (石河子大学第一附属医院消化内科), 陈鑫 (天津医科大学总医院消化内科), 邓亮 (重庆医科大学附属第一医院消化内科), 何庆良 (福建医科大学附属第一医院胃肠外科), 胡兵 (四川大学华西医院消化内科), 胡端敏 (苏州大学附属第二医院消化内科), 黄小兵 (陆军军医大学第二附属医院肝胆外科), 李百文 (上海交通大学医学院附属第一人民医院消化内科), 刘梅 (华中科技大学同济医学院附属同济医院消化内科), 刘权焰 (天津医科大学总医院肝胆胰外科), 刘小伟 (中南大学湘雅医院消化内科), 吕瑛 (南京大学医学院附属鼓楼医院消化内科), 缪林 (南京医科大学第二附属医院消化内科), 潘阳林 (空军军医大学第一附属医院消化内科), 齐健 (中山大学附属第七医院消化内科), 孙晓梅 (黑龙江省医院南岗区消化病院), 覃山羽 (广西医科大学第一附属医院消化内科), 王健 (四川大学生物治疗国家重点实验室), 王祥 (兰州大学第二医院消化内科), 王新颖 (南方医科大学珠江医院消化内科), 王亚雷 (安徽医科大学第一附属医院消化内科), 王震宇 (天津市南开医院内镜中心), 韦斌 (西北大学附属西安市第一医院消化内科), 肖斌 (南京医科大学第一附属医院胰腺中心), 杨建峰 (西湖大学医学院附属杭州市第一人民医院消化内科), 叶连松 (四川大学华西医院消化内科), 殷飞 (河北医科大学第四医院消化内科), 袁湘蕾 (四川大学华西医院消化内科), 原丽莉 (山西白求恩医院消化内科), 张春清 (山东省立医院消化内科), 张国新 (江苏省人民医院消化内科), 张宇航 (四川大学华西医院消化内科), 赵贵君 (内蒙古自治区人民医院消化医学中心)

利益冲突 所有作者声明不存在利益冲突



参 考 文 献

- [1] Drost J, Clevers H. Organoids in cancer research[J]. *Nat Rev Cancer*, 2018, 18(7): 407-418. DOI: 10.1038/s41568-018-0007-6.
- [2] Li M, Izpisua Belmonte JC. Organoids - preclinical models of human disease[J]. *N Engl J Med*, 2019, 380(6): 569-579. DOI: 10.1056/NEJMr1806175.
- [3] Nakamura Y, Kawazoe A, Lordick F, et al. Biomarker-targeted therapies for advanced-stage gastric and gastro-oesophageal junction cancers: an emerging paradigm[J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2021, 18(8): 473-487. DOI: 10.1038/s41571-021-00492-2.
- [4] Li Y, Huang HC, Chen LQ, et al. Predictive biomarkers for response of esophageal cancer to chemo(radio)therapy: a systematic review and meta-analysis[J]. *Surg Oncol*, 2017, 26(4): 460-472. DOI: 10.1016/j.suronc.2017.09.003.
- [5] Giganti F, Marra P, Ambrosi A, et al. Pre-treatment MDCT-based texture analysis for therapy response prediction in gastric cancer: comparison with tumour regression grade at final histology[J]. *Eur J Radiol*, 2017, 90: 129-137. DOI: 10.1016/j.ejrad.2017.02.043.
- [6] Kim ST, Cristescu R, Bass AJ, et al. Comprehensive molecular characterization of clinical responses to PD-1 inhibition in metastatic gastric cancer[J]. *Nat Med*, 2018, 24(9): 1449-1458. DOI: 10.1038/s41591-018-0101-z.
- [7] Le Berre C, Sandborn WJ, Aridhi S, et al. Application of Artificial Intelligence to Gastroenterology and Hepatology[J]. *Gastroenterology*, 2020, 158(1): 76-94. e2. DOI: 10.1053/j.gastro.2019.08.058.
- [8] Jung G, Hernández-Illán E, Moreira L, et al. Epigenetics of colorectal cancer: biomarker and therapeutic potential[J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2020, 17(2): 111-130. DOI: 10.1038/s41575-019-0230-y.
- [9] Okada S, Vaeteewoottacharn K, Kariya R. Application of highly immunocompromised mice for the establishment of patient-derived xenograft (PDX) models[J]. *Cells*, 2019, 8(8): 889. DOI: 10.3390/cells8080889.
- [10] Lau H, Kranenburg O, Xiao H, et al. Organoid models of gastrointestinal cancers in basic and translational research[J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2020, 17(4): 203-222. DOI: 10.1038/s41575-019-0255-2.
- [11] Foo MA, You M, Chan SL, et al. Clinical translation of patient-derived tumour organoids- bottlenecks and strategies [J]. *Biomark Res*, 2022, 10(1): 10. DOI: 10.1186/s40364-022-00356-6.
- [12] Andrews JC, Schünemann HJ, Oxman AD, et al. GRADE guidelines: 15. Going from evidence to recommendation-determinants of a recommendation's direction and strength[J]. *J Clin Epidemiol*, 2013, 66(7): 726-735. DOI: 10.1016/j.jclinepi.2013.02.003.
- [13] Balshem H, Helfand M, Schünemann HJ, et al. GRADE guidelines: 3. Rating the quality of evidence[J]. *J Clin Epidemiol*, 2011, 64(4): 401-406. DOI: 10.1016/j.jclinepi.2010.07.015.
- [14] Guyatt G, Oxman AD, Akl EA, et al. GRADE guidelines: 1. Introduction-GRADE evidence profiles and summary of findings tables[J]. *J Clin Epidemiol*, 2011, 64(4): 383-394. DOI: 10.1016/j.jclinepi.2010.04.026.
- [15] Guyatt GH, Oxman AD, Kunz R, et al. GRADE guidelines: 2. Framing the question and deciding on important outcomes[J]. *J Clin Epidemiol*, 2011, 64(4): 395-400. DOI: 10.1016/j.jclinepi.2010.09.012.
- [16] Li X, Francies HE, Secier M, et al. Organoid cultures recapitulate esophageal adenocarcinoma heterogeneity providing a model for clonality studies and precision therapeutics[J]. *Nat Commun*, 2018, 9(1): 2983. DOI: 10.1038/s41467-018-05190-9.
- [17] Pan X, Wang J, Guo L, et al. Identifying a confused cell identity for esophageal squamous cell carcinoma[J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2022, 7(1): 122. DOI: 10.1038/s41392-022-00946-8.
- [18] Yan H, Siu HC, Law S, et al. A comprehensive human gastric cancer organoid biobank captures tumor subtype heterogeneity and enables therapeutic screening[J]. *Cell Stem Cell*, 2018, 23(6): 882-897. e11. DOI: 10.1016/j.stem.2018.09.016.
- [19] Lin M, Gao M, Cavnar MJ, et al. Utilizing gastric cancer organoids to assess tumor biology and personalize medicine[J]. *World J Gastrointest Oncol*, 2019, 11(7): 509-517. DOI: 10.4251/wjgo.v11.i7.509.
- [20] Aberle MR, Burkhardt RA, Tiriach H, et al. Patient-derived organoid models help define personalized management of gastrointestinal cancer[J]. *Br J Surg*, 2018, 105(2): e48-60. DOI: 10.1002/bjs.10726.
- [21] 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.
- [22] 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.
- [23] Steele NG, Chakrabarti J, Wang J, et al. An organoid-based preclinical model of human gastric cancer[J]. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol*, 2019, 7(1): 161-184. DOI: 10.1016/j.jcmgh.2018.09.008.
- [24] Zu M, Hao X, Ning J, et al. Patient-derived organoid culture of gastric cancer for disease modeling and drug sensitivity testing [J]. *Biomed Pharmacother*, 2023, 163: 114751. DOI: 10.1016/j.biopha.2023.114751.
- [25] 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.
- [26] Yao Y, Xu X, Yang L, et al. Patient-derived organoids predict chemoradiation responses of locally advanced rectal cancer[J]. *Cell Stem Cell*, 2020, 26(1): 17-26. e6. DOI: 10.1016/j.stem.2019.10.010.
- [27] Ooft SN, Weeber F, Schipper L, et al. Prospective experimental treatment of colorectal cancer patients based on organoid drug responses[J]. *ESMO Open*, 2021, 6(3): 100103. DOI: 10.1016/j.esmoop.2021.100103.
- [28] Hsu KS, Adileh M, Martin ML, et al. Colorectal cancer develops inherent radiosensitivity that can be predicted using patient-derived organoids[J]. *Cancer Res*, 2022, 82(12): 2298-2312. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-21-4128.
- [29] Kong J, Lee H, Kim D, et al. Network-based machine learning in colorectal and bladder organoid models predicts anti-cancer drug efficacy in patients[J]. *Nat Commun*, 2020, 11(1): 5485. DOI: 10.1038/s41467-020-19313-8.
- [30] Mäkinen L, Vähä-Koskela M, Juusola M, et al. Pancreatic cancer organoids in the field of precision medicine: a review of



- literature and experience on drug sensitivity testing with multiple readouts and synergy scoring[J]. *Cancers (Basel)*, 2022,14(3):525. DOI: 10.3390/cancers14030525.
- [31] Grossman JE, Muthuswamy L, Huang L, et al. Organoid sensitivity correlates with therapeutic response in patients with pancreatic cancer[J]. *Clin Cancer Res*, 2022, 28(4): 708-718. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-20-4116.
- [32] Seppälä TT, Zimmerman JW, Suri R, et al. Precision medicine in pancreatic cancer: patient-derived organoid pharmacotyping is a predictive biomarker of clinical treatment response[J]. *Clin Cancer Res*, 2022, 28(15): 3296-3307. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-21-4165.
- [33] Nakagawa K, Sho M, Fujishiro M, et al. Clinical practice guidelines for duodenal cancer 2021[J]. *J Gastroenterol*, 2022, 57(12):927-941. DOI: 10.1007/s00535-022-01919-y.
- [34] Pham NA, Radulovich N, Ibrahimov E, et al. Patient-derived tumor xenograft and organoid models established from resected pancreatic, duodenal and biliary cancers[J]. *Sci Rep*, 2021,11(1):10619. DOI: 10.1038/s41598-021-90049-1.
- [35] Chakrabarti J, Koh V, So J, et al. A preclinical human-derived autologous gastric cancer organoid/immune cell co-culture model to predict the efficacy of targeted therapies[J]. *J Vis Exp*, 2021,(173)DOI: 10.3791/61443.
- [36] Parikh AY, Masi R, Gasmi B, et al. Using patient-derived tumor organoids from common epithelial cancers to analyze personalized T-cell responses to neoantigens[J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2023,72(10):3149-3162. DOI: 10.1007/s00262-023-03476-6.
- [37] Sun CP, Lan HR, Fang XL, et al. Organoid models for precision cancer immunotherapy[J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 770465. DOI: 10.3389/fimmu.2022.770465.
- [38] Hu LF, Yang X, Lan HR, et al. Preclinical tumor organoid models in personalized cancer therapy: not everyone fits the mold[J]. *Exp Cell Res*, 2021,408(2):112858. DOI: 10.1016/j.yexcr.2021.112858.
- [39] Choi D, Gonzalez-Suarez AM, Dumbra MG, et al. Microfluidic organoid cultures derived from pancreatic cancer biopsies for personalized testing of chemotherapy and immunotherapy[J]. *Adv Sci (Weinh)*, 2024, 11(5): e2303088. DOI: 10.1002/advs.202303088.
- [40] Ota H, Tanabe K, Saeki Y, et al. Establishment of a novel overlay culture method that enables immune response assessment using gastric cancer organoids[J]. *Heliyon*, 2024, 10(1):e23520. DOI: 10.1016/j.heliyon.2023.e23520.
- [41] Veitch AM, Vanbiervliet G, Gershlick AH, et al. Endoscopy in patients on antiplatelet or anticoagulant therapy, including direct oral anticoagulants: British Society of Gastroenterology (BSG) and European Society of Gastrointestinal Endoscopy (ESGE) guidelines[J]. *Endoscopy*, 2016, 48(4): 385-402. DOI: 10.1055/s-0042-102652.
- [42] Veitch AM, Radaelli F, Alikhan R, et al. Endoscopy in patients on antiplatelet or anticoagulant therapy: British Society of Gastroenterology (BSG) and European Society of Gastrointestinal Endoscopy (ESGE) guideline update[J]. *Gut*, 2021,70(9):1611-1628. DOI: 10.1136/gutjnl-2021-325184.
- [43] Polkowski M, Jenssen C, Kaye P, et al. Technical aspects of endoscopic ultrasound (EUS) -guided sampling in gastroenterology: European society of gastrointestinal endoscopy (ESGE) technical guideline - March 2017[J]. *Endoscopy*, 2017, 49(10): 989-1006. DOI: 10.1055/s-0043-119219.
- [44] 国家药品监督管理局药品审评中心.基因治疗产品非临床研究 与评价技术指导原则(试行)[A/OL].(2021-12-03) [2023-12-10]. <https://www.cde.org.cn/main/att/download/2414a842ae6ae1c95ce59aa8c6209302>.
- [45] 国家药品监督管理局药品审评中心.基因修饰细胞治疗产品非临床研究技术指导原则(试行)[A/OL].(2021-12-03) [2023-12-10]. <https://www.cde.org.cn/main/att/download/6653e5aa7b3b8730c3ecb30ad1bdb338>.
- [46] Boers SN, van Delden JJ, Bredenoord AL. Broad consent is consent for governance[J]. *Am J Bioeth*, 2015, 15(9): 53-55. DOI: 10.1080/15265161.2015.1062165.
- [47] Bredenoord AL, Clevers H, Knoblich JA. Human tissues in a dish: the research and ethical implications of organoid technology[J]. *Science*, 2017, 355(6322): eaaf9414 [pii]. DOI: 10.1126/science.aaf9414.
- [48] Garrett SB, Dohan D, Koenig BA. Linking broad consent to biobank governance: support from a deliberative public engagement in california[J]. *Am J Bioeth*, 2015, 15(9): 56-57. DOI: 10.1080/15265161.2015.1062177.
- [49] Bollinger J, May E, Mathews D, et al. Patients' perspectives on the derivation and use of organoids[J]. *Stem Cell Reports*, 2021,16(8):1874-1883. DOI: 10.1016/j.stemcr.2021.07.004.
- [50] 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;赵冰,等.肿瘤类器官诊治平台的质量控制标准中国专家共识(2022年版)[J].*中国癌症杂志*, 2022, 32(7): 657-668. DOI: 10.19401/j.cnki.1007-3639.2022.07.010.
- [51] Boers SN, van Delden JJ, Clevers H, et al. Organoid biobanking: identifying the ethics: organoids revive old and raise new ethical challenges for basic research and therapeutic use[J]. *EMBO Rep*, 2016, 17(7): 938-941. DOI: 10.15252/embr.201642613.
- [52] Nam SY, Lee SJ, Lim HJ, et al. Clinical risk factors and pattern of initial fungal contamination in endoscopic biopsy-derived gastrointestinal cancer organoid culture[J]. *Korean J Intern Med*, 2021, 36(4): 878-887. DOI: 10.3904/kjim.2020.474.
- [53] 中国医师协会内镜医师分会消化内镜专业委员会,中国抗癌协会肿瘤内镜学专业委员会.中国消化内镜诊疗相关肠道准备指南(2019,上海)[J].*中华消化内镜杂志*,2019,36(7): 457-469. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1007-5232.2019.07.001.
- [54] 潘锋.消化内镜新技术助力消化道肿瘤早诊早治[J].*中国医药科学*,2023,13(23):1-4.
- [55] Chiu P, Uedo N, Singh R, et al. An Asian consensus on standards of diagnostic upper endoscopy for neoplasia[J]. *Gut*, 2019,68(2):186-197. DOI: 10.1136/gutjnl-2018-317111.
- [56] Calderwood AH, Jacobson BC. Comprehensive validation of the Boston bowel preparation scale[J]. *Gastrointest Endosc*, 2010,72(4):686-692. DOI: 10.1016/j.gie.2010.06.068.
- [57] 中华人民共和国国家卫生健康委员会医政医管局.胃癌诊疗指南(2022年版)[J].*中华消化外科杂志*,2022,21(9): 1137-1164. DOI:10.3760/cma.j.cn115610-20220726-00432.
- [58] Smyth EC, Nilsson M, Grabsch HI, et al. Gastric cancer[J]. *Lancet*, 2020, 396(10251): 635-648. DOI: 10.1016/S0140-6736(20)31288-5.
- [59] Yang J, Lin P, Yang M, et al. Integrated genomic and transcriptomic analysis reveals unique characteristics of hepatic metastases and pro-metastatic role of complement C1q in pancreatic ductal adenocarcinoma[J]. *Genome Biol*, 2021, 22(1):4. DOI: 10.1186/s13059-020-02222-w.
- [60] Levine DS, Reid BJ. Endoscopic biopsy technique for



- acquiring larger mucosal samples[J]. *Gastrointest Endosc*, 1991,37(3):332-337. DOI: 10.1016/s0016-5107(91)70726-8.
- [61] Gowen GF. An improved technique of endoscopic biopsy in the upper gastrointestinal tract[J]. *Gastrointest Endosc*, 1986, 32(1):59-60. DOI: 10.1016/s0016-5107(86)71743-4.
- [62] Martin TR, Onstad GR, Silvis SE, et al. Lift and cut biopsy technique for submucosal sampling[J]. *Gastrointest Endosc*, 1976,23(1):29-30. DOI: 10.1016/s0016-5107(76)73572-7.
- [63] Chen G, Liu S, Zhao Y, et al. Diagnostic accuracy of endoscopic ultrasound-guided fine-needle aspiration for pancreatic cancer: a meta-analysis[J]. *Pancreatol*, 2013, 13(3):298-304. DOI: 10.1016/j.pan.2013.01.013.
- [64] Hewitt MJ, McPhail MJ, Possamai L, et al. EUS-guided FNA for diagnosis of solid pancreatic neoplasms: a meta-analysis[J]. *Gastrointest Endosc*, 2012, 75(2): 319-331. DOI: 10.1016/j.gie.2011.08.049.
- [65] Hébert-Magee S, Bae S, Varadarajulu S, et al. The presence of a cytopathologist increases the diagnostic accuracy of endoscopic ultrasound-guided fine needle aspiration cytology for pancreatic adenocarcinoma: a meta-analysis[J]. *Cytopathology*, 2013,24(3):159-171. DOI: 10.1111/cyt.12071.
- [66] Hassan GM, Laporte L, Paquin SC, et al. Endoscopic ultrasound guided fine needle aspiration versus endoscopic ultrasound guided fine needle biopsy for pancreatic cancer diagnosis: a systematic review and meta-analysis[J]. *Diagnostics (Basel)*, 2022, 12(12): 2951. DOI: 10.3390/diagnostics12122951.
- [67] 中国医师协会超声内镜专家委员会. 中国内镜超声引导下细针穿刺抽吸/活检术应用指南(2021,上海)[J]. *中华消化内镜杂志*, 2021,38(5):337-360. DOI: 10.3760/cma.j.cn321463-20210302-00143.
- [68] Masuda S, Koizumi K, Shionoya K, et al. Comprehensive review on endoscopic ultrasound-guided tissue acquisition techniques for solid pancreatic tumor[J]. *World J Gastroenterol*, 2023,29(12):1863-1874. DOI: 10.3748/wjg.v29.i12.1863.
- [69] Asokkumar R, Yung Ka C, Loh T, et al. Comparison of tissue and molecular yield between fine-needle biopsy (FNB) and fine-needle aspiration (FNA): a randomized study[J]. *Endosc Int Open*, 2019,7(8):E955-963. DOI: 10.1055/a-0903-2565.
- [70] Facciorusso A, Crinò SF, Ramai D, et al. Comparative diagnostic performance of different techniques for EUS-guided fine-needle biopsy sampling of solid pancreatic masses: a network meta-analysis[J]. *Gastrointest Endosc*, 2023, 97(5): 839-848.e5. DOI: 10.1016/j.gie.2023.01.024.
- [71] Bernstein DE, Barkin JS, Reiner DK, et al. Standard biopsy forceps versus large-capacity forceps with and without needle [J]. *Gastrointest Endosc*, 1995,41(6):573-576. DOI: 10.1016/s0016-5107(95)70193-1.
- [72] Siegel M, Barkin JS, Rogers AI, et al. Gastric biopsy: a comparison of biopsy forceps[J]. *Gastrointest Endosc*, 1983, 29(1):35-36. DOI: 10.1016/s0016-5107(83)72498-3.
- [73] Woods KL, Anand BS, Cole RA, et al. Influence of endoscopic biopsy forceps characteristics on tissue specimens: results of a prospective randomized study[J]. *Gastrointest Endosc*, 1999, 49(2):177-183. DOI: 10.1016/s0016-5107(99)70483-9.
- [74] Sussman DA, Deshpande AR, Shankar U, et al. Comparison of performance characteristics of oval cup forceps versus serrated jaw forceps in gastric biopsy[J]. *Dig Dis Sci*, 2016, 61(8):2338-2343. DOI: 10.1007/s10620-016-4129-y.
- [75] Schafer TW, Hollis-Perry KM, Mondragon RM, et al. An observer-blinded, prospective, randomized comparison of forceps for endoscopic esophageal biopsy[J]. *Gastrointest Endosc*, 2002, 55(2): 192-196. DOI: 10.1067/mge.2002.121225.
- [76] Gonzalez S, Yu WM, Smith MS, et al. Randomized comparison of 3 different-sized biopsy forceps for quality of sampling in Barrett's esophagus[J]. *Gastrointest Endosc*, 2010, 72(5): 935-940. DOI: 10.1016/j.gie.2010.07.035.
- [77] Tiriac H, Bucobo JC, Tzimas D, et al. Successful creation of pancreatic cancer organoids by means of EUS-guided fine-needle biopsy sampling for personalized cancer treatment [J]. *Gastrointest Endosc*, 2018, 87(6): 1474-1480. DOI: 10.1016/j.gie.2017.12.032.
- [78] Lee JH, Kim H, Lee SH, et al. Establishment of patient-derived pancreatic cancer organoids from endoscopic ultrasound-guided fine-needle aspiration biopsies[J]. *Gut Liver*, 2022,16(4):625-636. DOI: 10.5009/gnl210166.
- [79] Ikezawa K, Ekawa T, Hasegawa S, et al. Establishment of organoids using residual samples from saline flushes during endoscopic ultrasound-guided fine-needle aspiration in patients with pancreatic cancer[J]. *Endosc Int Open*, 2022, 10(1):E82-87. DOI: 10.1055/a-1713-3404.
- [80] Ishida Y, Tsunoda T, Hamada Y, et al. Standardized methods using EUS-guided fine-needle biopsy and a minimal medium creates three pancreatic cancer organoids[J]. *Anticancer Res*, 2022,42(8):4103-4109. DOI: 10.21873/anticancer.15908.
- [81] Bang JY, Hébert-Magee S, Trevino J, et al. Randomized trial comparing the 22-gauge aspiration and 22-gauge biopsy needles for EUS-guided sampling of solid pancreatic mass lesions[J]. *Gastrointest Endosc*, 2012, 76(2): 321-327. DOI: 10.1016/j.gie.2012.03.1392.
- [82] Facciorusso A, Wani S, Triantafyllou K, et al. Comparative accuracy of needle sizes and designs for EUS tissue sampling of solid pancreatic masses: a network meta-analysis[J]. *Gastrointest Endosc*, 2019,90(6):893-903.e7. DOI: 10.1016/j.gie.2019.07.009.
- [83] Cazacu IM, Luzuriaga Chavez AA, Saftoiu A, et al. A quarter century of EUS-FNA: Progress, milestones, and future directions[J]. *Endosc Ultrasound*, 2018, 7(3): 141-160. DOI: 10.4103/eus.eus_19_18.
- [84] Song TJ, Kim JH, Lee SS, et al. The prospective randomized, controlled trial of endoscopic ultrasound-guided fine-needle aspiration using 22G and 19G aspiration needles for solid pancreatic or peripancreatic masses[J]. *Am J Gastroenterol*, 2010,105(8):1739-1745. DOI: 10.1038/ajg.2010.108.
- [85] Vilmann P, Seicean A, Saftoiu A. Tips to overcome technical challenges in EUS-guided tissue acquisition[J]. *Gastrointest Endosc Clin N Am*, 2014, 24(1): 109-124. DOI: 10.1016/j.giec.2013.08.009.
- [86] Sakamoto H, Kitano M, Komaki T, et al. Prospective comparative study of the EUS guided 25-gauge FNA needle with the 19-gauge Trucut needle and 22-gauge FNA needle in patients with solid pancreatic masses[J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2009, 24(3): 384-390. DOI: 10.1111/j.1440-1746.2008.05636.x.
- [87] Chen H, Yang Y, Shi J, et al. Comparison of surgical and colonoscopy tissue to establish colorectal patient-derived organoids[J]. *Curr Cancer Drug Targets*, 2023. DOI: 10.2174/0115680096263866231024112120.
- [88] Zhang Q, Bansal A, Dunbar KB, et al. A human Barrett's esophagus organoid system reveals epithelial-mesenchymal



- plasticity induced by acid and bile salts[J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2022, 322(6): G598-614. DOI: 10.1152/ajpgi.00017.2022.
- [89] Karakasheva TA, Kijima T, Shimonosono M, et al. Generation and characterization of patient-derived head and neck, oral, and esophageal cancer organoids[J]. *Curr Protoc Stem Cell Biol*, 2020, 53(1):e109. DOI: 10.1002/cpsc.109.
- [90] Derouet MF, Allen J, Wilson GW, et al. Towards personalized induction therapy for esophageal adenocarcinoma: organoids derived from endoscopic biopsy recapitulate the pre-treatment tumor[J]. *Sci Rep*, 2020, 10(1): 14514. DOI: 10.1038/s41598-020-71589-4.
- [91] Du L, Wang D, Nagle PW, et al. Role of mTOR through autophagy in esophageal cancer stemness[J]. *Cancers (Basel)*, 2022, 14(7):1806. DOI: 10.3390/cancers14071806.
- [92] Liu X, Cheng Y, Abraham JM, et al. Modeling Wnt signaling by CRISPR-Cas9 genome editing recapitulates neoplasia in human Barrett epithelial organoids[J]. *Cancer Lett*, 2018, 436: 109-118. DOI: 10.1016/j.canlet.2018.08.017.
- [93] Nakagawa H, Kasagi Y, Karakasheva TA, et al. Modeling epithelial homeostasis and reactive epithelial changes in human and murine three-dimensional esophageal organoids[J]. *Curr Protoc Stem Cell Biol*, 2020, 52(1):e106. DOI: 10.1002/cpsc.106.
- [94] Gao M, Lin M, Rao M, et al. Development of patient-derived gastric cancer organoids from endoscopic biopsies and surgical tissues[J]. *Ann Surg Oncol*, 2018, 25(9): 2767-2775. DOI: 10.1245/s10434-018-6662-8.
- [95] Li J, Chen Y, Zhang Y, et al. Clinical value and influencing factors of establishing stomach cancer organoids by endoscopic biopsy[J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2023, 149(7): 3803-3810. DOI: 10.1007/s00432-022-04296-4.
- [96] Weeber F, van de Wetering M, Hoogstraal M, et al. Preserved genetic diversity in organoids cultured from biopsies of human colorectal cancer metastases[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2015, 112(43):13308-13311. DOI: 10.1073/pnas.1516689112.
- [97] Park M, Kwon J, Shin HJ, et al. Butyrate enhances the efficacy of radiotherapy via FOXO3A in colorectal cancer patient-derived organoids[J]. *Int J Oncol*, 2020, 57(6): 1307-1318. DOI: 10.3892/ijo.2020.5132.
- [98] Zhang M, Hu S, Min M, et al. Dissecting transcriptional heterogeneity in primary gastric adenocarcinoma by single cell RNA sequencing[J]. *Gut*, 2021, 70(3):464-475. DOI: 10.1136/gutjnl-2019-320368.
- [99] Driehuis E, Kretschmar K, Clevers H. Establishment of patient-derived cancer organoids for drug-screening applications[J]. *Nat Protoc*, 2020, 15(10): 3380-3409. DOI: 10.1038/s41596-020-0379-4.
- [100] Yang HJ, Seo SI, Lee J, et al. Sample collection methods in upper gastrointestinal research[J]. *J Korean Med Sci*, 2023, 38(32):e255. DOI: 10.3346/jkms.2023.38.e255.
- [101] Mohamadnejad M, Mullady D, Early DS, et al. Increasing number of passes beyond 4 does not increase sensitivity of detection of pancreatic malignancy by endoscopic ultrasound-guided fine-needle aspiration[J]. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 2017, 15(7): 1071-1078. e2. DOI: 10.1016/j.cgh.2016.12.018.
- [102] Leung Ki EL, Lemaistre AI, Fumex F, et al. Macroscopic onsite evaluation using endoscopic ultrasound fine needle biopsy as an alternative to rapid onsite evaluation[J]. *Endosc Int Open*, 2019, 7(2):E189-194. DOI: 10.1055/a-0770-2726.
- [103] So H, Seo DW, Hwang JS, et al. Macroscopic on-site evaluation after EUS-guided fine needle biopsy may replace rapid on-site evaluation[J]. *Endosc Ultrasound*, 2021, 10(2): 111-115. DOI: 10.4103/EUS-D-20-00113.
- [104] Mohan BP, Madhu D, Reddy N, et al. Diagnostic accuracy of EUS-guided fine-needle biopsy sampling by macroscopic on-site evaluation: a systematic review and meta-analysis[J]. *Gastrointest Endosc*, 2022, 96(6):909-917.e11. DOI: 10.1016/j.gie.2022.07.026.
- [105] Mangiavillano B, Crinò SF, Facciorusso A, et al. Endoscopic ultrasound-guided fine-needle biopsy with or without macroscopic on-site evaluation: a randomized controlled noninferiority trial[J]. *Endoscopy*, 2023, 55(2): 129-137. DOI: 10.1055/a-1915-5263.
- [106] Sundaram S, Chhanchure U, Patil P, et al. Rapid on-site evaluation (ROSE) versus macroscopic on-site evaluation (MOSE) for endoscopic ultrasound-guided sampling of solid pancreatic lesions: a paired comparative analysis using newer-generation fine needle biopsy needles[J]. *Ann Gastroenterol*, 2023, 36(3): 340-346. DOI: 10.20524/aog.2023.0790.
- [107] Lacombe JF, Plenker D, Tiriach H, et al. Single-pass vs 2-pass endoscopic ultrasound-guided fine-needle biopsy sample collection for creation of pancreatic adenocarcinoma organoids [J]. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 2021, 19(4): 845-847. DOI: 10.1016/j.cgh.2020.02.045.
- [108] Kim S, Woo KJ, Yang CM, et al. Simultaneous establishment of pancreatic cancer organoid and cancer-associated fibroblast using a single-pass endoscopic ultrasound-guided fine-needle biopsy specimen[J]. *Dig Endosc*, 2023, 35(7): 918-926. DOI: 10.1111/den.14648.
- [109] Sachs N, de Ligt J, Kopper O, et al. A living biobank of breast cancer organoids captures disease heterogeneity[J]. *Cell*, 2018, 172(1-2):373-386.e10. DOI: 10.1016/j.cell.2017.11.010.
- [110] Dekkers JF, van Vliet EJ, Sachs N, et al. Long-term culture, genetic manipulation and xenotransplantation of human normal and breast cancer organoids[J]. *Nat Protoc*, 2021, 16(4): 1936-1965. DOI: 10.1038/s41596-020-00474-1.
- [111] 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.
- [112] Song H, Park JY, Kim JH, et al. Establishment of patient-derived gastric cancer organoid model from tissue obtained by endoscopic biopsies[J]. *J Korean Med Sci*, 2022, 37(28):e220. DOI: 10.3346/jkms.2022.37.e220.
- [113] Iwasaki E, Fukuhara S, Horibe M, et al. Endoscopic ultrasound-guided sampling for personalized pancreatic cancer treatment[J]. *Diagnostics (Basel)*, 2021, 11(3):469. DOI: 10.3390/diagnostics11030469.
- [114] Seino T, Kawasaki S, Shimokawa M, et al. Human pancreatic tumor organoids reveal loss of stem cell niche factor dependence during disease progression[J]. *Cell Stem Cell*, 2018, 22(3):454-467.e6. DOI: 10.1016/j.stem.2017.12.009.
- [115] Juiz N, Elkaoutari A, Bigonnet M, et al. Basal-like and classical cells coexist in pancreatic cancer revealed by single-cell analysis on biopsy-derived pancreatic cancer organoids from the classical subtype[J]. *FASEB J*, 2020, 34(9): 12214-12228. DOI: 10.1096/fj.202000363RR.
- [116] Kopper O, de Witte CJ, Löhmussaar K, et al. An organoid platform for ovarian cancer captures intra- and interpatient



- heterogeneity[J]. Nat Med, 2019,25(5):838-849. DOI: 10.1038/s41591-019-0422-6.
- [117] Maenhoudt N, Defraye C, Boretto M, et al. Developing organoids from ovarian cancer as experimental and preclinical models[J]. Stem Cell Reports, 2020, 14(4): 717-729. DOI: 10.1016/j.stemcr.2020.03.004.
- [118] Lee SH, Hu W, Matulay JT, et al. Tumor evolution and drug response in patient-derived organoid models of bladder cancer[J]. Cell, 2018, 173(2): 515-528. e17. DOI: 10.1016/j.cell.2018.03.017.
- [119] Wang R, Mao Y, Wang W, et al. Systematic evaluation of colorectal cancer organoid system by single-cell RNA-Seq analysis[J]. Genome Biol, 2022, 23(1): 106. DOI: 10.1186/s13059-022-02673-3.
- [120] Seppälä TT, Zimmerman JW, Sereni E, et al. Patient-derived organoid pharmacotyping is a clinically tractable strategy for precision medicine in pancreatic cancer[J]. Ann Surg, 2020, 272(3):427-435. DOI: 10.1097/SLA.0000000000004200.
- [121] Sachdeva UM, Shimonosono M, Flashner S, et al. Understanding the cellular origin and progression of esophageal cancer using esophageal organoids[J]. Cancer Lett, 2021,509:39-52. DOI: 10.1016/j.canlet.2021.03.031.
- [122] Secrier M, Li X, de Silva N, et al. Mutational signatures in esophageal adenocarcinoma define etiologically distinct subgroups with therapeutic relevance[J]. Nat Genet, 2016, 48(10):1131-1141. DOI: 10.1038/ng.3659.
- [123] Ballard DH, Boyer CJ, Alexander JS. Organoids - preclinical models of human disease[J]. N Engl J Med, 2019, 380(20): 1981-1982. DOI: 10.1056/NEJMc1903253.
- [124] Ukai S, Honma R, Sakamoto N, et al. Molecular biological analysis of 5-FU-resistant gastric cancer organoids; KHDRBS3 contributes to the attainment of features of cancer stem cell[J]. Oncogene, 2020, 39(50): 7265-7278. DOI: 10.1038/s41388-020-01492-9.
- [125] Tiriach H, Belleau P, Engle DD, et al. Organoid profiling identifies common responders to chemotherapy in pancreatic cancer[J]. Cancer Discov, 2018, 8(9): 1112-1129. DOI: 10.1158/2159-8290.CD-18-0349.
- [126] Ooft SN, Weeber F, Dijkstra KK, et al. Patient-derived organoids can predict response to chemotherapy in metastatic colorectal cancer patients[J]. Sci Transl Med, 2019, 11(513): eaay2574 [pii]. DOI: 10.1126/scitranslmed.aay2574.
- [127] Neal JT, Li X, Zhu J, et al. Organoid modeling of the tumor immune microenvironment[J]. Cell, 2018, 175(7): 1972-1988. e16. DOI: 10.1016/j.cell.2018.11.021.
- [128] Zhou Z, Van der Jeught K, Fang Y, et al. An organoid-based screen for epigenetic inhibitors that stimulate antigen presentation and potentiate T-cell-mediated cytotoxicity[J]. Nat Biomed Eng, 2021, 5(11): 1320-1335. DOI: 10.1038/s41551-021-00805-x.
- [129] Yuki K, Cheng N, Nakano M, et al. Organoid models of tumor immunology[J]. Trends Immunol, 2020, 41(8): 652-664. DOI: 10.1016/j.it.2020.06.010.
- [130] Votanopoulos KI, Skardal A. ASO Author reflections: co-cultured lymph node and tumor organoids as a platform for the creation of adaptive immunity and predict response to immunotherapy[J]. Ann Surg Oncol, 2020, 27(6): 1968-1969. DOI: 10.1245/s10434-020-08351-7.

• 读者 • 作者 • 编者 •

《中华消化内镜杂志》对来稿中统计学处理的有关要求

1. 统计研究设计:应交代统计研究设计的名称和主要做法。如调查设计(分为前瞻性、回顾性或横断面调查研究);实验设计(应交代具体的设计类型,如自身配对设计、成组设计、交叉设计、析因设计、正交设计等);临床试验设计(应交代属于第几期临床试验,采用了何种盲法措施等)。主要做法应围绕4个基本原则(随机、对照、重复、均衡)概要说明,尤其要交代如何控制重要非试验因素的干扰和影响。

2. 资料的表达与描述:用 $\bar{x} \pm s$ 表达近似服从正态分布的定量资料,用 $M(Q_1, Q_3)$ 或 $M(IQR)$ 表达呈偏态分布的定量资料;用统计表时,要合理安排纵横标目,并将数据的含义表达清楚;用统计图时,所用统计图的类型应与资料性质相匹配,并使数轴上刻度值的标法符合数学原则;用相对数时,分母不宜小于20,要注意区分百分率与百分比。

3. 统计学分析方法的选择:对于定量资料,应根据所采用的设计类型、资料所具备的条件和分析目的,选用合适的统计学分析方法,不应盲目套用 t 检验和单因素方差分析;对于定性资料,应根据所采用的设计类型、定性变量的性质和频数所具备的条件以及分析目的,选用合适的统计学分析方法,不应盲目套用 χ^2 检验。对于回归分析,应结合专业知识和散点图,选用合适的回归类型,不应盲目套用简单直线回归分析,对具有重复实验数据的回归分析资料,不应简单化处理;对于多因素、多指标资料,要在一元分析的基础上,尽可能运用多元统计学分析方法,以便对因素之间的交互作用和多指标之间的内在联系进行全面、合理的解释和评价。

4. 统计结果的解释和表达:当 $P < 0.05$ (或 $P < 0.01$)时,应说明对比组之间的差异有统计学意义,而不应说对比组之间具有显著性(或非常显著性)的差别;应写明所用统计学分析方法的具体名称(如:成组设计资料的 t 检验、两因素析因设计资料的方差分析、多个均数之间两两比较的 q 检验等),统计量的具体值(如 t 值, χ^2 值, F 值等)应尽可能给出具体的 P 值;当涉及到总体参数(如总体均数、总体率等)时,在给出显著性检验结果的同时,再给出95%可信区间。

