

## ORIGINAL ARTICLE

유방암 환자에서 3차원 조직 배양 항암제 감수성  
검사의 유용성정용식 · 조영업<sup>1</sup> · 서영진<sup>2</sup> · 김정수<sup>2</sup> · 오세정<sup>2</sup> · 임철완<sup>3</sup> · 김문보<sup>4</sup> · 박흥규<sup>5</sup>아주대학교 의과대학 외과학교실, <sup>1</sup>인하대학교 의과대학 외과학교실, <sup>2</sup>가톨릭대학교 의과대학 외과학교실,<sup>3</sup>순천향대학교 의과대학 외과학교실, <sup>4</sup>(주)메타바이오, <sup>5</sup>가천의과학대학교 의과대학 외과학교실Can the Histoculture Drug Response Assay Predict the Clinical Results of  
Chemotherapy in Breast Cancer?Yong Sik Jung, Young Up Cho<sup>1</sup>, Young Jin Suh<sup>2</sup>, Jeong Soo Kim<sup>2</sup>, Se-Jeong Oh<sup>2</sup>, Cheol Wan Lim<sup>3</sup>, Moon Bo Kim<sup>4</sup>,  
Heung Kyu Park<sup>5</sup>Department of Surgery, Ajou University, School of Medicine, Suwon; <sup>1</sup>Department of Surgery, Inha University, College of Medicine, Incheon;  
<sup>2</sup>Department of Surgery, the Catholic University of Korea, College of Medicine, Seoul; <sup>3</sup>Department of Surgery, Soonchunhyang University, College  
of Medicine, Seoul; <sup>4</sup>MetaBio Incorporated, Seoul; <sup>5</sup>Department of Surgery, Gachon University of Medical and Science, Incheon, Korea**Purpose:** The behavior of invasive carcinomas in human can be very varied with different individual responses to chemotherapy. Individualization is crucial to the optimization of chemotherapy. Therefore, the prediction of a tumor's sensitivity to anticancer agents has been the subject of intensive investigation. In order to investigate the pathobiology of breast cancer, it is necessary to maintain or recreate the characteristics of the three-dimensional architecture of the tissues in culture. In this study, we have evaluated the relationship between the Histoculture Drug Response Assay (HDRA) assessment and chemotherapy responses in breast cancer patients.**Methods:** Tumor specimens from 30 patients with breast cancer were evaluated using the HDRA. Tumor tissues were cultured on gelfoam sponge gel in 24-well plates, followed by treatment with a variety of chemotherapeutic agents. All treatments were conducted in triplicate. The sensitivity of a chemotherapy regimen was defined as a tumor inhibition rate (IR) in excess of 30%. Neoadjuvant or palliative chemotherapy for patients, using anthracycline or taxane, was conducted on the basis of the established protocols. The responses to treatments were compared with the results of the HDRA.**Results:** The mean IR for the combinations of doxorubicin and docetaxel and for FAC and AC were 48, 45, and 36%, respectively. The above partial rate of response to chemotherapy was 81.1%. The sensitivity and specificity of the HDRA assessment, with a 30% inhibition rate, were 81.5 and 66.7%, respectively. The positive and negative response prediction values were 91.7 and 44.4%, respectively. The responses to treatments and the results of the HDRA assessment were not correlated with the expressions of the hormonal receptor or c-erbB2.**Conclusion:** In cases in which the inhibition rate is in excess of 30%, the HDRA assessment yielded a high positive response prediction value. The sensitivity to chemotherapy, as determined by the HDRA, appears to be a good guide for selection in breast cancer patients. Thus the results presented herein should be integrated into future research on the subject.

Key Words : Breast cancer, Chemotherapy, Histoculture Drug Response Assay (HDRA)

중심단어 : 유방암, 항암화학요법, 3차원 조직배양 항암제 감수성 검사

책임저자 : 박흥규

405-760 인천광역시 남동구 구월동 1198, 가천의과학대학 외과,  
길병원 유방센터

Tel: 032-460-3268, Fax: 032-460-3247

E-mail : hgjh@gilhospital.com

접수일 : 2007년 5월 21일 게재승인일 : 2007년 7월 24일

\*본 논문의 요지는 2006년 추계외과학회 구연 발표되었음.

## 서론

현재 한국 여성의 유방암 발생은 해마다 빠르게 증가하고 있으며 이중 많은 여성들이 수술 후 보조적인 항암화학요법을 시행

받고 있다. 계속해서 새로운 항암제가 개발되고 있으며 수술과 약물요법, 그리고 방사선 요법을 병용하여 치료의 효과를 극대화시키고 있으나 재발과 전이는 계속해서 발생하고 있다. 또한 같은 약제에 대해서도 개개인에 따라 다양한 치료 반응과 결과를 보이므로 가장 효과적인 항암제를 선택하기 위한 많은 연구가 진행되어 왔다. (1, 2) 항암제 감수성 검사는 세포배양을 이용한 2차원 모델과 조직배양을 이용한 3차원 모델로 크게 나눌 수 있으며 이중 2차원 모델은 비교적 쉽게 할 수 있다는 장점이 있어 널리 이용되고 있으나 stroma 조직이 결핍되어 있어 인체 내의 조직에서와 같은 미세환경과는 차이가 있을 것으로 생각된다. (3) 암의 발생과 진행 형태는 매우 다양한 모습을 보인다. 이것은 조직의 미세환경 내에서 세포와 세포간의 지속적인 상호 작용에 의한 것으로 생각되며 많은 호르몬과 성장인자, adhesion molecule, cytokine 등에 의한 신호전달체계가 관여하고 있다. 따라서 인체 내의 미세한 경과와 유사한 조건을 만들어 약제의 감수성을 검사하는 것이 좀 더 정확한 결과를 얻을 수 있을 것이고 이러한 목표하에 많은 조직 배양 방법이 등장하였다.

Histoculture Drug Response Assay (HDRA)는 미국 Anticancer사의 기술을 기반으로 개발되었으며, collagen sponge 위에 암조직을 3차원적으로 배양한 뒤 항암제의 감수성을 평가하는 방법으로 최근 많은 연구가 진행되고 있으며, 2차원적인 세포 배양 방법에 비해 정확한 결과를 얻을 수 있을 것으로 기대되는 방법이다. (4)

본 연구에서는 수술 전 항암요법을 받을 유방암 환자 혹은 전이성 유방암 환자를 대상으로 HDRA 검사를 시행하여 단독 혹은 병용 투여된 항암제의 감수성을 평가하고 실제 환자의 항암 화학요법 후의 결과와 비교하여 3차원 조직배양 항암제 감수성 검사의 유효성을 평가하고자 하였다.

## 방 법

### 1. 대상

2005년 5월부터 2006년 4월까지 7개 병원을 방문한 국소 진행성 유방암 환자 및 전이성 유방암 환자 30명을 대상으로 전향적 연구를 하였으며 정확하고 신속한 결과를 얻기 위하여 대상 환자군을 전이성 유방암 혹은 수술 전 신보강 항암요법을 시행할 예정인 환자로 국한하였다.

### 2. 조직배양 및 항암제 감수성 검사

치료 시작 전 총 조직 검사를 시행하여 채취한 조직을 trans-port media (Hank's Balanced Salt Solution [include 10% FBS, 200 mg/L Gentamycine Sulfate, 1X Non-Essential

Amino Acids])에 넣어 4°C를 유지하여 운반한 후, cryostat을 이용하여 유방암 조직을 확인하였으며, 운반된 조직을 약 1 mm 크기로 chopping 한 후 조직을 culture media (Minimum Essentials Media [include Sodium Bicarbonate, 100 mL/L FBS, 2 mL/L Gentamycin Sulfate, 1X Non-Essential Amino Acids])에 옮긴 후 하룻밤 동안 배양하였다. 조직을 4-6 mg씩 동일하게 측정하여 배양액이 담긴 collagen sponge 위에 올려 놓고 각 well에 control로 사용되는 PBS와 1% dimethylsulfoxide (DMSO, Sigma, USA) 및 시험 항암제를 처리하였으며, 감수성 검사에 사용된 항암제와 농도는 Table 1과 같다.

약제 처리 3일 후 배양액을 제거하고 각각의 well에 0.1 mg/dL collagenase (type I)를 포함하는 HBSS와 5 mg/dL의 PBS에 녹여진 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl-tetrazolium bromide (MTT, Sigma, USA)를 각각 100 µL씩 넣어주고, 37°C에서 4시간 동안 배양한다. 이후에 배양액을 제거하고 0.5 mL의 DMSO (Sigma, USA)를 넣고 shaker 위에 올려놓고 1시간 이상 두어 formazan crystal을 추출하였다. 540 nm에서 분광흡광계(SPECTRA max 340PC, Molecular Devices)로 흡광도를 측정하였으며, 측정된 흡광도를 이용하여 inhibition rate (IR)를 계산하였으며 공식은 아래와 같다.

$$\text{Inhibition rate (\%)} = (1 - T/C) \times 100$$

T: Drug을 처리한 well의 조직 g 당 흡광도

C: Control well의 조직 g 당 흡광도

Inhibition rate가 30% 이상이면 각 항암제의 cutoff 농도에 대한 중양의 감수성이 양성인 것으로 판정하였다.

실험의 정도관리를 위하여 Glucose consumption test (Quantichron™ Glucose Assay kit [DIGL-200])를 이용한

Table 1. Concentrations and references of anti-cancer drugs in Histoculture Drug Response Assay

Anti-cancer drugs	Concentrations (µL/mL)	References
Adriamycin	6	J. Surgical Oncol. 1991;47:253-60
Cyclophosphamide	20	J. Pharmacol. Exp. Ther. 1999;288(3):928-37
5-Fluorouracil	40	Anticancer Res. 1992;12:1055-62
Docetaxel	50	Oncology 2002;63:205-212
FAC	40:6:20	J. Natl Cancer Inst. 1998;90:1346-60
AC	6:20	Curr Oncol Rep. 2003;5(1):66-71
AD	6:50	Cancer Letters. 2004;215:53-9

FAC=combination of 5FU, adriamycin, and cyclophosphamide; AC=combination of adriamycin and cyclophosphamide; AD=combination of adriamycin and docetaxel.

배지 내 포도당 소모량을 측정하였으며, TUNEL assay로 약제에 의한 apoptosis 확인도 함께 실시하였다(Fig 1).

**3. 항암화학요법 및 치료반응 판정**

항암제 감수성 검사의 결과와 상관 없이 현재 가장 많이 쓰이는 anthracycline 중심 혹은 anthracycline과 taxane의 병용 요법을 선택하여 항암화학요법을 진행하였으며 항암제의 용량은 일반적으로 투여되는 제표 표시 기재 사항의 “용법 및 용량”에 설명된 범위 내에서 투여하였다. 27명의 환자에서는 처음 선택한 요법으로 치료 후 평가하였으며, 3명은 1차 선택 치료 후 stable disease 혹은 progressive disease를 나타내어 약제를 바꾸어 다시 치료하여 총 33예의 치료에 대한 결과를 얻었다.

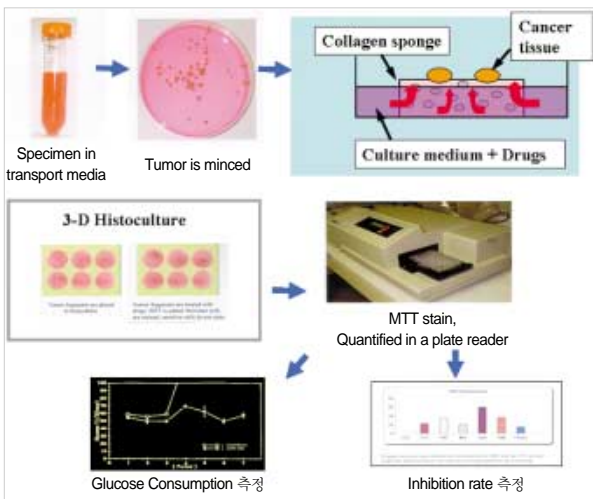
26예는 anthracycline과 taxane의 병용 요법이었으며, 7예는 anthracycline 중심의 화학요법으로 치료하였고, 연구에 사용된 항암제와 용량, 주기는 Table 2와 같다.

항암 화학요법 시행 전 초음파 혹은 컴퓨터 단층 촬영을 시행하여 종양의 장축을 측정하여 치료 후 같은 방법의 검사를 통해 치료 전과 후의 종양의 크기 변화를 측정하였으며, 치료 반응에

**Table 2.** Regimens and mean dosage of chemotherapy were treated to patients

Regimens (mean dosage)	Number
Anthracycline	7
AC (50, 500/m <sup>2</sup> )	3
FAC (500, 50, 500/m <sup>2</sup> )	4
Anthracycline+Taxane	26
Adriamycin+Docetaxel (60, 80/m <sup>2</sup> )	26

AC=combination of adriamycin, cyclophosphamide; FAC=combination of 5FU, adriamycin, cyclophosphamide.



**Fig 1.** Schematic process of 3 dimensional histoculture drug response assay.

대한 평가는 Response Evaluation Criteria in Solid Tumor (RECIST)에 따라 시행하였다(Table 3).

**4. 통계**

실제 항암제 치료의 결과를 반응 그룹(complete response, partial response)과 불응 그룹(stable disease, progressive disease)으로 분류하고 사용된 약제의 HDRA 검사의 결과를 감수성 양성 그룹(chemosensitive)과 음성 그룹(chemoresistant)으로 분류하여 Pearson chi square test를 이용하여 교차분석을 시행하였으며 HDRA의 결과와 치료 반응 여부를 평가하고, ER, PR, c-erbB2 발현과의 관계도 교차분석을 시행하였다. 통계 프로그램은 SPSS 11.0을 이용하였으며 p 값이 0.05 이하일 때 통계적으로 유의성이 있는 것으로 판단하였다.

**결 과**

**1. 환자의 임상적 특성**

환자들의 평균 연령은 48.6세였으며 대부분 ECOG 1 이상이였다. 30명 중 7명은 진단 당시 타장기에 전이가 있는 4기 유방암이었으며 나머지 23명의 평균 종양 크기는 5.8 cm이었다. 대부분 침윤성 관상피암이었고 2예의 침윤성 소엽세포암과 1예의 apocrine carcinoma가 포함되어 있었다. 항암 화학요법의 평균 투여 횟수는 3.2회(cycle)였다(Table 4). 항암 화학 요법에 대한

**Table 3.** Response evaluation criteria in solid tumors (RECIST)

Complete response (CR)	Disappearance of disease
Partial response (PR)	30% or more decrease
Stable disease (SD)	Neither PR nor PD criteria met
Progressive disease (PD)	25% or more increase
	No CR, PR, SD documented before increased disease

**Table 4.** Clinico-pathologic characteristics of patients

Age at diagnosis (yr)	48.6 (range: 29-77)
Physical status	ECOG 0 : 24 ECOG 1 : 5 ECOG 2 : 1
Tumor diameter	5.8 cm (1.7-11 cm)
Histologic type	Infiltrating ducta carcinoma: 27 Infiltrating lobular carcinoma: 2 Apocrine carcinoma: 1
Estrogen receptor	Positive: 10 Negative: 19
Progesterone receptor	Positive: 7 Negative: 22
c-erbB2	Positive: 14 Negative: 15

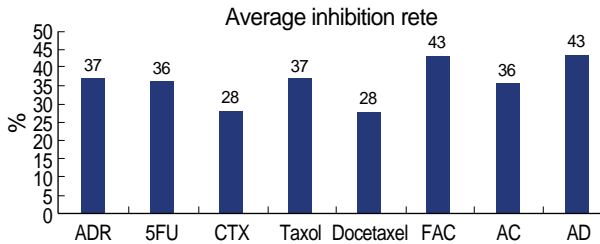


Fig 2. Average inhibition rate in 3-dimensional histoculture drug response assay.

ADR=adriamycin; CTX=cyclophosphamide; FAC=combination of 5FU, adriamycin, cyclophosphamide; AC=combination of adriamycin, cyclophosphamide; AD=combination of adriamycin, docetaxel.

반응은 partial response 이상이 27예로 81.8%, stable disease 를 보인 경우가 6예로 18.2%였다.

**2. Histoculture Drug Response Assay**

단독 항암제와 병용 요법을 포함하여 8개의 약제에 대해 항암 제감수성 검사를 시행한 결과 전체적인 inhibition rate는 36% 였으며 5-FU, adriamycin, cyclophosphamide의 병용요법 과 adriamycin, docetaxel의 병용요법이 평균 inhibition rate 가 43%로 가장 높게 나와서 실제로 현재 가장 많이 쓰이는 요법 과 일치하는 결과를 나타내었다(Fig 2).

**3. HDRA 결과와 치료 반응과의 상관 관계**

항암화학 요법 후 실제로 partial response 이상의 반응을 보인 27예의 HDRA 결과 중 IR이 30% 미만이었었던 resistant group 은 5예였으며 IR 30% 이상의 sensitive group은 22예였으며, 항암화학요법에 반응이 없었던 6예 중 4예는 HDRA의 결과가 IR 30% 미만, 2예는, IR 30% 이상이였다(Table 5). HDRA 검 사의 예민도(sensitivity)는 81.5%, 특이도(specificity)는 66.7 %, 양성반응예측률(positive response prediction value)은 91.7%, 음성반응예측률(negative response prediction value) 은 44.4%였다. 전체적인 검사의 정확도는 78.2%였으며 전이성 암의 경우 89.9%의 정확도를 나타내었고, 수술 전 항암 화학요법 의 경우 75%의 정확도를 나타내었다. 항암화학요법에 반응이 있 었던 경우의 평균 IR은 44.5%였으며 반응이 없었던 경우의 평균 IR은 19.5%였다. HDRA 검사 결과와 항암화학요법에 대한 반응 모두 호르몬 수용체의 발현이나 *c-erbB2*의 과다발현과는 관계 가 없는 것으로 나타났다.

**고 찰**

국소 진행성 혹은 전이성 유방암의 치료에 있어서 항암화학요

Table 5. Correlation between result of HDRA and response to adriamycin with or without docetaxel combination

	Response		Total	p-value
	SD, PD	PR, CR		
Resistant group (30% >IR)	4	5	9	
Sensitive group (30% ≤IR)	2	22	24	<0.05
Total	6	27		

HDRA=histoculture drug response assay; SD=stable disease; PD= progressive disease; PR=partial response; CR=complete response; IR=inhibition rate.

법은 매우 큰 비중을 차지하고 있으며 다양한 항암약제들이 임상 에서 사용되고 있다. 그러나 같은 형태학적 특징을 나타내는 종양 이라 할지라도 항암화학요법에 대한 반응은 환자 개인인에 따라 다양하게 나타날 수 있으며 이러한 다양성은 종양 세포의 성장에 따라 획득되는 유전체상의 특성에 기인하는 것으로 생각이 되며 DNA의 메틸화, 전사 후 변형 등의 기전으로 인해 더욱 복잡한 양상을 띄게 된다. 따라서 이렇게 다양한 비균질성을 극복하고 항 암 화학 요법의 반응을 높이는 것이 종양 전문가들의 주된 관심으 로 대두되고 있다.

최근에 각광을 받는 방법은 종양의 특수한 표지자를 목적으로 하는 targeted therapy와 개별 종양에 대한 약제 감수성을 평가 하는 individualized therapy가 있으며 후자인 항암제 감수성 검사의 경우 세포의 배양 방법이나 세포 측정 방법에 따라 여러 가지 다양한 방법들이 개발되었고 현재 많은 방법들이 연구 목적 혹은 임상 치료에서 사용이 되고 있다. 그러나 이러한 항암제 감 수성 검사의 경우 그동안 많은 제한점으로 인해 널리 이용되지 못 한 것이 사실이며, 특히 2차원적인 배양의 경우 자발적으로 성장 할 수 있는 세포들을 대상으로 하므로 세포 배양의 환경이 생체 내에서 일어나는 다양한 요소들, 즉 미세혈관의 생성, 저산소증에 따른 여러 인자들, 주위 기질 세포들이나 종양 세포들 간의 세포- 세포 간의 상호 작용이나 호르몬 혹은 성장 단백질 등의 미세한 작용들을 정확히 반영할 수 없다는 점이 가장 큰 약점으로 지적되 어 왔다. 또한 과거의 2차원적인 배양 방법의 경우 실험의 성공률 과 재현성이 낮다는 점과 세포 성장 시 발생할 수 있는 가소성 등 으로 인하여 측정 오류가 생기는 문제점도 임상적 적용을 유보하 게 만든 원인 중 하나였다.(1)

HDRA는 미국 Anticancer사의 기술을 기반으로 개발되었으 며, collagen sponge위에 암 조직을 3차원적으로 배양한 뒤 항 암제의 감수성을 평가하는 방법으로 collagen sponge gel을 이 용해 생체 내의 간질 조직과 유사한 구조를 형성하고 원래의 종양 과 주위 조직을 유지 시켜 3차원적으로 배양하는 방법으로 생체

내 미세 환경과 유사한 조건을 제공하고 종양세포의 성장 또한 실제 종양과 유사한 구조로 성장하게 함으로써 2차원적인 배양 방법에 비해 이론적인 장점이 있는 것으로 평가되고 있다.(5-8) 실제로 기존의 연구에서 HDRA가 실험의 성공률과 재현성이 높게 나타나며 몇몇 종양에 대한 연구에서도 실제 생존율이 HDRA에 의한 항암제 감수성이 있는 그룹에서 높은 것으로 보고되어 임상적 유용성에 대한 기대를 높이고 있다.(4, 9, 10)

HDRA의 임상적인 유용성에 대해서는 유방암을 포함한 다양한 종양에 대해 연구가 진행되고 있으며 두경부 종양, 폐의 비소세포암, 구강의 편평상피암, 방광암 및 난소암 등의 연구에서 실제 치료 반응과의 높은 일치도 혹은 생존율의 향상을 보고하고 있으나 연구의 대부분이 소규모로 진행되어 추가적인 연구 또한 필요한 상황이다.(11-15)

본 연구의 결과 HDRA 검사의 전체 양성 반응 예측률은 91.7%였으며 adriamycin과 docetaxel의 병용 요법을 사용한 27예의 양성 반응 예측률은 94.4%로 상당히 높게 나타났으며 이는 기존의 연구에서 보고되는 경험적 신 보강 항암 화학 요법의 반응률인 80-85%를 훨씬 웃도는 결과로 환자의 개개인에 따른 항암제 선택에 도움이 될 것으로 기대가 되나 음성 반응 예측률은 전체 44.4%, adrimycin과 docetaxel의 병용 요법을 사용한 경우 50%로 낮은 예측률을 보여 HDRA 검사에서 낮은 inhibition rate를 보였을 때 항암제의 선택에는 신중한 결정이 필요할 것으로 사료된다. 이러한 낮은 음성반응 예측률의 원인에 대해서는 연구가 더 필요할 것으로 생각되며, HDRA 검사와 치료 반응이 일치하지 않은 환자의 대부분의 inhibition rate가 20%에서 30% 사이에 분포하고 있었으며 inhibition rate의 cut-off 값을 20%로 낮추었을 때의 양성 반응 예측률은 95.2%, 음성 반응 예측률은 80%로 상승하는 것으로 계산되어 추후 유방암에 대한 inhibition rate에 대한 검증 또한 필요할 것으로 생각된다.

호르몬 수용체나 c-erb B2의 발현 등은 HDRA 검사 결과나 치료 반응과 관련이 없는 것으로 관찰되었으나 연구에 참여한 환자의 수가 적어 현재로서는 정확한 상관 관계를 언급하기 힘들며 연구에 참여한 환자의 수가 제한적이고 항암제 용량의 표준화가 정확히 이루어지지 않은 것 등은 아쉬운 점이나 유방암에서 HDRA의 유용성에 대한 국내외 임상적 연구가 거의 보고된 바 없는 상태이므로 앞으로의 지속적인 연구가 필요할 것으로 생각된다.

## 결 론

유방암 환자에서 HDRA를 이용한 항암제 감수성 검사 결과 실제 항암화학 요법에 대해 높은 양성 반응 예측률을 보여 향후 국소 진행성 유방암이나 전이성 유방암 치료 영역에서 치료 약제의

선택에 도움을 줄 수 있을 것으로 기대가 되며 이러한 선택적 치료가 생존율의 향상이나 부작용의 감소에 효과가 있는지에 대해서도 추가적인 연구가 필요할 것이다.

## 참고문헌

1. Kern DH, Wienthal LM. Highly specific prediction of antineoplastic drug resistance with an in vitro assay using suprapharmacologic drug exposure. *J Natl Cancer Inst* 1990;82:582-8.
2. Hoffman RM. In vitro assays for chemotherapy sensitivity. *Crit Rev Oncol Hematol* 1993;15:99-111.
3. Kim JB, Stein R, O'Hare MJ. Three-dimensional in vitro tissue culture models of breast cancer-a review. *Breast Cancer Res Treat* 2004; 85:281-91.
4. Furukawa T, Kubota T, Hoffman RM. Clinical applications of the histoculture drug response assay. *Clin Cancer Res* 1995;1:305-11.
5. Furukawa T, Kubota T, Watanabe M, Takahara T, Yamaguchi H, Takeuchi T, et al. High in vitro-in vivo correlation of drug response using sponge-gel-supported three-dimensional histoculture and the MTT end point. *Int J Cancer* 1992;51:489-98.
6. Hoffman RM. To do tissue culture in two or three dimensions? that is the question. *Stem Cells* 1993;11:105-11.
7. Sourla A, Doillon C, Koutsilieris M. Three-dimensional type I collagen gel system containing MG-63 osteoblasts-like cells as a model for studying local bone reaction caused by metastatic cancer cells. *Anticancer Res* 1996;16:2773-80.
8. Jacquot J, Spilmont C, Bulet H, Fuchey C, Buisson AC, Tournier JM, et al. Glandular-like morphogenesis and secretory activity of human tracheal gland cells in a three-dimensional collagen gel matrix. *J Cell Physiol* 1994;161:407-18.
9. Kang HJ, Ko CD, Yoon HS, Kim MB, Ahn SH. The reliability of histoculture drug response assay (HDRA) in chemosensitivity tests for breast cancer. *Cancer Res Treat* 2001;33:392-8.
10. Vescio RA, Connors KM, Kubota T, Hoffman RM. Correlation of histology and drug response of human tumors grown in native-state three-dimensional histoculture and in nude mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991;88:5163-6.
11. Singh B, Li R, Xu L, Poluri A, Pastel S, Shaha AR, et al. Prediction of survival in patients with head and neck cancer using the histoculture drug response assay. *Head Neck* 2002;24:437-42.
12. Yoshimasu T, Oura S, Maebeya S, Tanino H, Bessho T, Arimoto J, et al. Histoculture drug response assay on non-small cell lung cancer.

- Gan To Kagaku Ryoho 2000;27:717-22.
13. Ariyoshi Y, Shimahar M, Tanigawa N. Study on chemosensitivity of oral squamous cell carcinomas by histoculture drug response assay. *Oral Oncol* 2003;39:701-7.
  14. Hirano Y, Ushiyama T, Suzuki K, Fujita K. Clinical application of an in vitro chemosensitivity test, the Histoculture Drug Response Assay, to urological cancers: wide distribution of inhibition rates in bladder cancer and renal cell cancer. *Urol Res* 1999;27:483-8.
  15. Ohie S, Udagawa Y, Kozu A, Komuro Y, Aoki D, Nozawa S, et al. Cisplatin sensitivity of ovarian cancer in the histoculture drug response assay correlates to clinical response to combination chemotherapy with cisplatin, doxorubicin and cyclophosphamide. *Anticancer Res* 2000;20:2049-54.