

組織培養法を用いた肺癌の細胞生物学 並びに治療に関する研究

第 1 編

Human Tumor Clonogenic Assay を用いた制癌剤感受性試験の検討 — 肺癌を中心として —

岡山大学医学部第二内科学教室 (指導: 木村郁郎教授)

岸 本 信 康

(平成 4 年 6 月 24 日受稿)

Key words : human tumor clonogenic assay, drug sensitivity, lung cancer

緒 言

肺癌は世界的に増加しており、わが国においても1965年頃より急増傾向を示している。肺癌は他の臓器癌に比し、組織型が多彩であり、それぞれの組織型によって増殖速度、進展様式、治療に対する効果などが明らかに異なることが知られている。扁平上皮癌を除いた他の組織型では比較的早期より遠隔転移を来すため、集団検診などの早期発見の努力がなされているにもかかわらず肺癌全体の切除率はたかだか30%にすぎず、確定診断時には既に手術適応を越えた進展期症例が圧倒的に多いのが現状である¹⁾。

進展期肺癌に対する治療法としては、制癌剤を用いての癌化学療法が第1選択となるが、いまだ肺癌に対する標準的的化学療法は確立されたとはいえない。近年の癌化学療法は、臨床第II相試験によって得られた奏効率と毒性に基づいて選択された2剤ないし4剤の制癌剤を組み合わせた多剤併用療法が主流となっているが、その効果は同じ治療法を同じ組織型の腫瘍に投与しても個々の症例により必ずしも一定しない²⁾。それは個々の患者に発生した腫瘍がそれぞれ異なる薬剤感受性を有しているからに他ならない。したがって、癌化学療法の実施に際し、個々の腫瘍に対する効果を的確に予言できる薬剤感受性試験が確立されれば理想的といえる。このよ

うな予言性に優れた薬剤感受性試験は、効果的な薬剤を十分量投与し、無用な薬剤の投与を回避することにより、癌化学療法の治療効果の向上に寄与するものと思われる。

1977年、Salmon, Hamburger ら^{3),4)}によって開発された human tumor clonogenic assay (HTCA) を用いた薬剤感受性試験は、個々の症例より得られた腫瘍細胞を一定時間各濃度の薬剤と接触せしめたのち、2層軟寒天培地で一定時間培養し腫瘍細胞の生死をコロニー形成によって判定する方法であり、薬剤の殺細胞効果を定量的に表わすことが特徴的である。本 assay は、その後多くの施設で検討され、in vitro-in vivo 相関の高い優れた薬剤感受性試験の一つであるとの評価が定着しつつある。しかし、近年若干の問題点も明らかになりつつあり、本 assay が細菌感染症における抗菌剤の感受性試験と同様に、今後広く臨床の場で用いられるようになるか否かはいまだ明らかでない。

著者は1982年より HTCA を用いて肺癌を中心とする各種悪性腫瘍患者の臨床材料より得られた腫瘍細胞について in vitro 制癌剤感受性試験を行うとともに、臨床効果との相関について検討した。その結果、本 assay は薬剤感受性試験として有用であると考えられる結果を得たので報告する。

材 料 と 方 法

著者の行った方法を図1に示す。実験材料としては、各種悪性腫瘍患者の手術あるいは生検で得られた腫瘍組織、細胞診により悪性腫瘍細胞の存在が証明された胸・腹水、心のう貯留液、骨髄穿刺液などを用いた。手術、生検などで得られた腫瘍組織は、無菌条件下で可及的すみやかに耳鼻科用鉗を用いて細切し、37°C、5%CO₂下で2時間、0.8%collagenase (Sigma 製)、0.002% DNase (Sigma 製) を含む RPMI-1640 中で酵素処理を加え、最終的に stainless mesh で濾過することにより単一細胞浮遊液を得た。また、胸水などの体腔内貯留液、骨髄穿刺液の場合は、heparin を加え無菌的に採取し、Ficoll-Conray 比重遠沈法にて赤血球を除去し、細胞浮遊液を作製した。細胞浮遊液は、0.5% trypan blue 液にて生細胞数を算定し、生細胞数 $1 - 5 \times 10^5$ 個/ml の細胞密度で10%牛胎児血清 (Flow 製) 加 RPMI-1640 に浮遊させ、37°C 恒温槽内にて各薬剤と後述の濃度で1時間接触させた。その後10%牛胎児血清加 RPMI-1640 にて2回洗浄し、これを二層軟寒天培地の上層に供した。すなわち、径35mmのプラスチック製ペト

リディッシュ (Lux 製, #5217) に、あらかじめ 0.5% agar (Marine Colloids 製) と15%牛胎児血清を含む RPMI-1640 (総量 1 ml) にて feeder layer (下層) を作製しておき、前述の細胞を0.3% agar と15%牛胎児血清 (いずれも最終濃度) を含む RPMI-1640 に $1 - 5 \times 10^5$ 個/ml の割りで浮遊させ、その 1 ml を plating layer (上層) として重層させた。コロニー数の算定は、37°C、5%CO₂ 下で原則として2週間静置培養したのち、倒立顕微鏡下で行った。形成された細胞集塊が腫瘍コロニーか否か疑わしい場合には、これをパスツールペピットにて吸引採取し、その塗抹標本を May-Giemsa 染色あるいは Pananicolaou 染色し、腫瘍細胞であることを確認した。

実験に用いた制癌剤は、adriamycin (ADM), ifosfamide の活性体である 4-hydroperoxy ifosfamide (40497S), mitomycin C (MMC), cis-platinum (CDDP), methotrexate (MTX) の5薬剤であった。本 assay で検討した薬剤濃度は、実際の臨床投与量における血中濃度を指標として定めた。すなわち、各薬剤の通常投与量を one shot 静注した場合の血中濃度曲線の β -phase 起始部の濃度 (多くの場合、これは最高血中濃度のほぼ1/10に相当する) を基準とし、臨床的に到達可能な血中濃度の範囲内の3薬剤濃度を用いて検討した (表1)。実験は各薬剤、各濃度について、いずれも duplicate で行った。

実験において評価可能な可否、薬剤感受性の

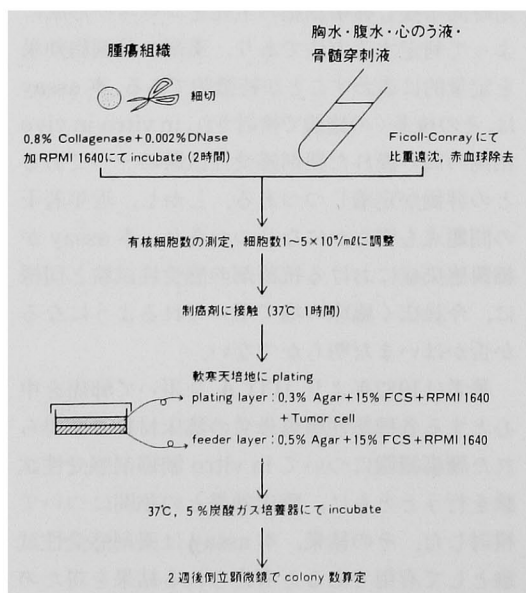


図1 Human Tumor Clonogenic assay による薬剤感受性試験の方法

表1 検討に用いた薬剤と in vitro において接触させた薬剤濃度 (μ M)

Adriamycin	1.0	0.1	0.01
40497 S*	1,000	100**	10
Mitomycin C	5.0	0.5	0.05
Cis-platinum	10.0	1.0	0.1
Methotrexate	10.0	1.0	0.1

* : Ifosfamide の活性体で4-hydroperoxy ifosfamide

** : 理論値

*** : 常用量 one shot 静注後の血中濃度曲線における β -phase 起始部の濃度あるいは最高血中濃度の1/10濃度

有無は、以下の基準にしたがって判定した。すなわち、30個以上の細胞集塊をコロニーとし、対照プレートにおけるコロニー数が5個以上の症例をコロニー形成症例とした。さらに対照プレートにおけるコロニー数が30個以上の症例を評価可能（感受性判定可能）症例とした。薬剤感受性有無の判定は、各薬剤濃度における生細胞率 (survival fraction) を両対数方眼紙上にプロットして dose response curve を作製し、これより70%殺細胞濃度 (LD₇₀) を求め、その濃度が表1に示す各薬剤の基準濃度（血中濃度に

おける β -phase 起始部の濃度) 以下にある場合を感受性ありと判定した (表2)。

また、in vitro 制癌剤感受性と臨床効果との相関性を検討するにあたって、当該薬剤の臨床的腫瘍効果は、日本癌治療学会「固形がん化学療法直接効果判定基準」に従って判定した。

結 果

肺癌を中心とする151例の各種悪性腫瘍について、HTCAによる薬剤感受性試験を行った。実験に用いた腫瘍の内訳は、表3に示すように、肺癌100例(扁平上皮癌20例、小細胞癌22例、腺癌53例、大細胞癌5例)、胃癌14例、卵巣癌10例、乳癌6例、膵臓癌5例、大腸癌4例、甲状腺癌2例、子宮癌3例、その他7例(腎癌、肝癌、髄膜腫、胆のう癌、膀胱癌、胸腺腫、組織球腫各1例)であった。また、実験に用いた試験材料採取部位の内訳は、表4に示すように、原発巣50例、リンパ節などの転移巣27例、胸水、腹水、心のう液などの体腔貯留液65例、骨髄穿刺液9例であった。

まず、腫瘍別のコロニー形成能について検討した(表3)。被検症例151例中93例(62%)においてコロニー形成が認められた。肺癌では100例中67例(67%)にコロニー形成が認められ、組織型別では扁平上皮癌20例中16例(80%)、小細胞癌22例中16例(73%)、腺癌53例中33例(62%)、大細胞癌5例中2例(40%)と各組織型を通して比較的高率にコロニー形成が観察された。肺癌以外の悪性腫瘍では、卵巣癌10例中8例(80%)、乳癌6例中4例(67%)、甲状腺癌2例中

表2 制癌剤感受性の判定基準

表3 各種悪性腫瘍症例における腫瘍別のコロニー形成

腫瘍	試験症例数	コロニー形成症例数 (%)	感受性評価可能症例数 (%)
肺癌	100	67(67)	45(45)
扁平上皮癌	20	16(80)	11(55)
小細胞癌	22	16(73)	12(55)
腺癌	53	33(62)	21(40)
大細胞癌	5	2(40)	1(20)
胃癌	14	6(43)	4(29)
卵巣癌	10	8(80)	5(50)
乳癌	6	4(67)	3(50)
膵臓癌	5	0(0)	0(0)
大腸癌	4	2(50)	1(25)
甲状腺癌	2	2(100)	2(100)
子宮癌	3	1(33)	1(33)
その他*	7	3(43)	1(14)
計	151	93(62)	62(41)

*: 腎癌, 肝癌, 髄膜腫, 胆のう癌, 膀胱癌, 胸腺腫, 組織球腫各1例

表4 各種悪性腫瘍症例における試験材料別のコロニー形成

試験材料	試験症例数	コロニー形成症例数 (%)	感受性評価可能症例数 (%)
原発巣	50	36(72)	25(50)
リンパ節などの転移巣	27	21(78)	14(52)
癌性胸水, 腹水, 心のう液	65	29(45)	20(31)
転移陽性骨髄穿刺液	9	7(78)	3(33)
計	151	93(62)	62(41)

2例(100%)と高率にコロニー形成がみられたが、胃癌、膵臓癌、大腸癌、子宮癌では、表3に示すように、コロニー形成能は、いずれも50%以下であり、卵巣癌、乳癌、甲状腺癌と比較すると、やや低い傾向がみられた。

つぎに、各腫瘍における薬剤感受性評価可能症例数について検討した。表3に示すごとく、被検症例151例中62例(41%)において薬剤感受性を評価することが可能であった。腫瘍別にみると、肺癌では、100例中45例(45%)において薬剤感受性をみることができた。これを組織型別にみると、扁平上皮癌20例中11例(55%)、小細胞癌22例中12例(55%)と比較的高率に薬剤感受性の評価が可能であったが、腺癌および大細胞癌ではそれぞれ53例中21例(40%)、5例中1例(20%)であり、評価可能症例の占める割合は扁平上皮癌、小細胞癌と比較するとやや低い傾向にあった。肺癌以外の悪性腫瘍では、甲状腺癌2例中2例(100%)、卵巣癌10例中5例(50%)、乳癌6例中3例(50%)と評価可能率は比較的高かったが、胃癌、膵臓癌、大腸癌、子宮癌などでは、薬剤感受性の評価は1/3ないしはそれ以下の症例においてのみ可能であった。

つぎに、試験材料別のコロニー形成能と薬剤感受性評価可能症例数について検討した。試験材料別のコロニー形成は、原発巣50例中36例(72%)、転移巣27例中21例(78%)、骨髄穿刺液9例中7例(78%)と高率に認められたが、体腔液では65例中29例(45%)であり、原発巣、転移巣、骨髄穿刺液などと比較するとやや低率であった。また、試験材料別の薬剤評価可能症例数は、原発巣50例中25例(50%)、転移巣27例中14例(52%)であり、半数を越える症例におい

て薬剤評価が可能であったが、体腔液および骨髄穿刺液では、それぞれ、65例中20例(31%)、9例中3例(33%)であり、薬剤評価が可能であったものは約1/3にとどまった(表4)。

最後に、本 assay による *in vitro* 薬剤感受性と臨床効果との相関について検討した。さきに述べたごとく、被検症例151例中62例において薬剤感受性の評価が可能であったが、この中で臨床効果との相関は、延べ37例について検討することができた。これら症例の多くは再治療例であったが、表5に示すように、*in vitro* にて感受性ありと判定された症例は延べ7例あり、当該薬剤の投与により4例において50%以上の腫瘍縮小が認められた(true positive rate 57%)。また *in vitro* にて感受性なしと判定された延べ30例においては、当該薬剤の投与によって臨床効果はまったく認められなかった(true negative rate 100%)。結局、臨床効果との相関を検討し得た37例のうち、*in vitro* にて感受性ありと判定されたが臨床的には無効であった(false positive) 3例を除く34例において *in vitro*-*in vivo* 相関が認められ、一致率は92%(34/37)と高率であった。

考 察

癌化学療法施行に際して制癌剤の効果を予測する目的で、これまでに多くの制癌剤感受性試験が開発されてきた。すなわち、*in vitro* での方法としては INK 法⁵⁾、SDI 法⁶⁾、organ culture を用いる方法⁷⁾などが、また *in vivo* での方法としては、xenograft を用いる方法⁸⁾、subrenal capsule assay⁹⁾などが試みられてきている。しかし、いずれの方法も一長一短があり、確立された方法とはいいがたい。今回著者は、HTCA を用いて肺癌を中心とする各種悪性腫瘍について *in vitro* 制癌剤感受性試験を行ない、本 assay の制癌剤感受性試験としての有用性について検討した。その結果、検討の対象となった151症例のうちコロニー形成を認めたものは93例(62%)であり、62例(41%)において薬剤感受性の評価が可能であった。さらに、*in vitro* 薬剤感受性と臨床効果の相関は、検討可能であった37例のうち、false positive 3例を除く34例において

表5 HTCA による薬剤感受性と臨床効果との相関

in vitro-in vivo 相関検討可能症例数	症 例 数			
	S/S	S/R	R/S	R/R
37	4	3	0	30

S/S : *in vitro* sensitive/*in vivo* sensitive

S/R : *in vitro* sensitive/*in vivo* resistant

R/S : *in vitro* resistant/*in vivo* sensitive

R/R : *in vitro* resistant/*in vivo* resistant

一致を認め、92% (true positive rate : 57%, true negative rate : 100%) という極めて高い一致率を得ることができた。

本 assay の制癌剤感受性試験としての有用性については、Salmon や Von Hoff らも精力的に検討し、その結果が報告されている。

Salmon¹⁰⁾は96症例の卵巣癌、骨髄腫、悪性黒色腫などの悪性腫瘍患者を対象に193検体につき本 assay を行い、本 assay の true positive rate は61%であり、true negative rate は96%であったと報告している。また、Von Hoff ら¹¹⁾は800症例、36種の悪性腫瘍患者を対象に本 assay を行い、459例 (57%) にコロニー形成を認め、123例につき in vitro での感受性と臨床効果との関係を retrospective に検討した結果、true positive rate は71%、true negative rate は98%であったと報告している。さらに、Von Hoff ら¹²⁾は本 assay の制癌剤感受性試験としての精度を厳密に評価するために、470症例の各種悪性腫瘍患者を対象に prospective clinical trial を行っている。彼らの報告によると、604検体につき、本 assay を実施するとともに単剤による癌化学療法を行った結果、246例 (41%) で in vitro 感受性をみることができ、true positive rate は60%、true negative rate は85%であり、本 assay は prospective clinical trial においても臨床効果との高い相関が得られている。著者の行った検討においてもほぼ同様の true positive rate および true negative rate であり、本 assay は他の種々の制癌剤感受性試験に比し in vitro での感受性と臨床効果との相関性に優れていると考えられる。

田口¹³⁾は、臨床的に応用しうる制癌剤感受性試験の条件として、①正確に臨床効果の予言性のあるものであること、②比較的簡便でかつ迅速に判定できるものであること、③少ない臨床材料で実施可能なこと、などをあげている。本法は、前述のごとく①および②の条件は満たしていると考えられるが、③の条件は満たしているとは言いがたく、今後さらなる検討を必要とする問題点と思われた。著者の検討では、本 assay を行った151検体中コロニー形成を認めたものは93例 (62%) であり、in vitro での感受性をみ

ることができたのは62例 (41%) であった。また、コロニー形成率は概して低く0.02%前後であり、感受性試験を実施するためには比較的多量の細胞を必要とした。この低いコロニー形成率が、本 assay の最大の問題点であり、本 assay をさらに普及させるためには epidermal growth factor, insulin などの増殖促進因子の添加、培養液の改良など¹⁴⁻²¹⁾によりこの問題を早急に解決することが必要であろう。

以上に述べたように、本 assay はコロニー形成率に改良の余地はあるものの in vitro の制癌剤感受性試験としては極めて優れた方法であると思われる。また、本 assay を用いて新制癌剤の薬剤指向性の検索についても検討が行われ²²⁾、in vitro phase II study における本 assay の有用性が示唆されている。また、骨髄生検標本、骨髄塗抹標本ともに腫瘍細胞が陰性と判定された肺小細胞癌患者が得られた骨髄穿刺液液を用いて本 assay を行った結果、腫瘍細胞のコロニー形成が認められたとする報告^{23), 24)}もあり、本 assay は腫瘍細胞の骨髄進展を早期に知る手段としても有用であると思われた。

結 論

肺癌を中心とする各種悪性腫瘍患者より得られた原発巣、転移巣または癌性体腔貯留液を用いて、HTCA による in vitro 制癌剤感受性試験を行い、臨床効果との相関性について検討した。その結果、in vitro 制癌剤感受性と臨床効果には92%と高率な相関が認められ、本 assay は個々の患者に対する制癌剤臨床効果の予言性に優れた方法であると考えられた。しかしながら、本 assay が広く臨床の場に適用されるようになるためには、コロニー形成率をさらに向上させるための工夫が必要であると思われた。

本論文を撰筆するにあたり、御懇篤なる御指導ならびに御校閲を賜った恩師木村都郎教授に深甚の謝意を表わします。また、終始御懇篤なる御指導を賜った大塚泰亮助教授、平木俊吉先生に深謝します。

なお本論文の要旨は第43回日本癌学会総会 (昭和59年、福岡) において発表した。

文 献

- 1) 木村郁郎：肺癌の臨床。日内会誌 (1991) **80**, 30—42.
- 2) Selawy OS : Monochemotherapy of bronchogenic carcinoma with special reference to cell type. *Cancer Chemother Rep* (1973) **4**, 177—188.
- 3) Hamburger AW and Salmon SE : Primary bioassay of human tumor stem cells. *Science* (1977) **197**, 461—463.
- 4) Salmon SE, Hamburger AW, Soehnlen B, Durie BGM, Alberts DS and Moon TE : Quantitation of differential sensitivity of human-tumor stem cells to anticancer drugs. *N Engl J Med* (1978) **298**, 1321—1327.
- 5) 西岡久寿弥, 吉田武彦, 山本 正, 竹内富雄, 宮沢政栄, 西川正夫, 衣川湍水, 石橋幸雄, 藤井源七郎, 岡田清資, 清水健太郎, 永井吉造, 浅野 哲, 竹内正七, 小林 隆 : 人の悪性腫瘍の制癌性ウイルスおよび化学療法剤に対する感受性試験のこころみ。日臨 (1957) **15**, 1937—1948.
- 6) 近藤達平 : 制癌剤の適応—感受性試験。最新医 (1964) **19**, 2304—2311.
- 7) 田口鐵男, 薄金 眞雄, 藤田昌英 : Organ culture を用いた制癌感受性試験について。最新医 (1978) **33**, 2221—2226.
- 8) Giovanella BC, Stehlin JS, Sheparo RC and Willeams Jr LJ : Correlation between response to chemotherapy of human tumors in patients and in nude mice. *Cancer* (1983) **52**, 1146—1152.
- 9) Bogden AE, Griffin W, Reich SD, Costanza ME and Cobb WR : Predictive testing with the subrenal capsule assay. *Cancer Treat Rev* (1984) **11**, 113—124.
- 10) Salmon SE : Cloning of human tumor stem cells ; in *Progress in Clinical and Biological Research*, Vol. 48, Alan ed, Liss Inc., New York (1980) pp 223—245.
- 11) Von Hoff DD, Casper J, Bradley E, Sandbach J and Makuch R : Association between human tumor colony-forming assay results and response of an individual patient's tumor to chemotherapy. *Am J Med* (1981) **70**, 1027—1032.
- 12) Von Hoff DD, Clark GM, Stogdill BJ, Sarosdy MF and O'Brien MT, Casper JT, Mattox DE, Page CP, Cruz AB and Sandbach JF : Prospective clinical trial of a human tumor cloning system. *Cancer Res* (1983) **43**, 1926—1931.
- 13) 田口鐵男 : 制癌剤感受性の意義と歴史。癌と化療 (1982) **9**, 570—574.
- 14) Hamburger AW, Salmon SE, Kim MB, Trent JM, Soehnlen BJ, Alberts DJ and Schmidt HJ : Direct cloning of human ovarian carcinoma cells in agar. *Cancer Res* (1978) **38**, 3438—3444.
- 15) Asano S and Riglar C : Cloning growth in agar by human melanoma cells. *Cancer Res* (1981) **41**, 1199—1204.
- 16) Kern DH, Campbell MA, Cochran AJ, Burk MW and Morton DL : Cloning of human solid tumors in soft agar. *Int J Cancer* (1982) **30**, 725—729.
- 17) Eliason JF, Fekete A and Odartchenko N : Improving techniques for clonogenic assay. *Cancer Res* (1984) **94**, 267—275.
- 18) Hug V, Haynes M, Rashid R, Spitzer G, Blumenschen G and Hortobagyi G : Improved culture conditions for clonogenic growth of primary human breast tumors. *Br J Cancer* (1984) **50**, 207—213.

- 19) Gupta V and Eberle R : Modulation of tumor cell colony growth in soft agar by oxygen and its mechanism. *Br J Cancer* (1984) **49**, 587—593.
- 20) Citron ML, Jaffe ND, Hamburger AW, Lindbland AL, Banda FP, Yansen A, Nathan KA and Cohen MH : Improvement of human tumor cloning assay by suspension of fibroblasts into the bottom layer of agarose. *Cancer* (1986) **57**, 2357—2362.
- 21) Von Hoff DD, Forseth BJ, Huong M, Buchok JB and Lathan B : Improved plating efficiencies for human tumors cloned in capillary tubes versus petri dishes. *Cancer Res* (1986) **46**, 4012—4017.
- 22) Salmon SE : Human tumor colony assay and chemosensitivity testing. *Cancer Treat Rep* (1984) **68**, 117—125.
- 23) 平木俊吉, 宮井正博, 沼田健之, 河原 伸, 瀬戸 匠, 田村哲生, 小沢志朗, 三宅賢一, 中田康則, 大塚泰亮, 木村郁郎 : ヒト肺癌細胞の Direct Cloning Assay に関する検討 —臨床サンプルの薬剤感受性試験を含めて—. *肺癌* (1982) **22**, 435—439.
- 24) Hiraki S, Ohnoshi T, Miyai M, Numata T, Kawahara S, Seto T, Tamura T, Ozawa S and Kimura I : Tumor stem cell assay for detecting metastases of human lung cancer. *Acta Med Okayama* (1983) **37**, 141—146.

**Studies on cell biology and chemotherapy of lung cancer
using tissue culture techniques**

**Part 1. Drug sensitivity test in lung cancer using
human tumor clonogenic assay**

Nobuyasu KISHIMOTO

Second Department of Internal Medicine,

Okayama University Medical School,

Okayama 700, Japan

(Director : Prof. I. Kimura)

The selection of a series of effective drugs for individual patients in advance of drug therapy should increase the success of cancer chemotherapy. The human tumor clonogenic assay was evaluated as a drug sensitivity test mainly in patients with lung cancer. Tumor cells from malignant pleural effusion, tumor-positive bone marrow aspirates, and tumor tissues from the primary or metastases were used as specimens. Prior to plating, tumor cells were exposed to 4-hydroperoxy ifosfamide, adriamycin, mitomycin C, methotrexate, and cisplatin for one hour at graded concentrations which were achievable in man. Of 151 specimens tested, 93 (62%) yielded at least 5 colonies in the control plates containing no drugs. Colony growth (≥ 5 /plate) was seen in 80% of squamous cell carcinoma, in 73% of small cell carcinoma, in 62% of adenocarcinoma, and in 40% of large cell carcinoma. Among the 93 specimens with colony growth, 62 yielded more than 30 colonies in the control plates and were put in force for drug sensitivity testing. Of 37 instances in which the clinical response to a certain drug was examined, 34 (92%) showed an in vitro-in vivo correlation, showing a true positive rate of 57% and a true negative rate of 100%. In summary, the human tumor clonogenic assay would be an excellent technique for testing the drug sensitivity of the tumor in individual patients tumor.