



# 类器官在临床医学中的应用和研究进展

莫少波<sup>1</sup>, 管若羽<sup>2</sup>, 张龙<sup>1,3</sup>, 蔡三军<sup>1,3</sup>, 彭俊杰<sup>1</sup>, 华国强<sup>2,3\*</sup>

1. 复旦大学附属肿瘤医院大肠外科, 上海 200032;

2. 复旦大学放射医学研究所, 上海 200032;

3. 复旦大学附属肿瘤医院肿瘤研究所, 上海 200032

\* 联系人: E-mail: guoqianghua@fudan.edu.cn

收稿日期: 2021-08-22; 接受日期: 2021-11-15; 网络版发表日期: 2022-05-06

国家自然科学基金(批准号: 31470826, 31670858, U1932145)和上海市科学技术委员会科研计划(批准号: 18401933402)资助

**摘要** 类器官是具有三维结构、高度保留来源组织器官特性的体外3D类组织培养物。类器官的兴起和发展为临床医学提供了一项重要的工具。患者源性类器官可以作为模拟和研究疾病模型, 帮助临床医生更好地理解相关疾病病理生理, 并制定相应的治疗策略; 肿瘤患者类器官可以为药物筛选提供更准确的平台, 帮助和指导临床医生为癌症患者选择最合适的治疗方案, 提高患者临床预后。本文将介绍类器官在临床医学中的应用和研究进展。

**关键词** 类器官, 临床医学, 应用, 研究进展

类器官(organoids)作为使用成体干细胞或多能干细胞进行体外三维(3D)培养而形成的具有一定空间结构的组织类似物, 由于其能够最大程度地保有来源器官组织的特性, 具有冻存复苏、长期培养、来源广泛、成功率高、建模时间较短、培养体系相对较为简单等一系列优势, 近年来正在受到越来越多的关注。基于上述优势, 来源于病灶的类器官能够高度准确地反映病灶的临床病理特征, 并可以进行高通量药物筛选。因此, 类器官在临床医学中的应用可能性被广泛探索。回顾性及前瞻性研究表明, 类器官不仅能够高度忠实地反映临床疗效, 更可以被应用于治疗方案的探索及疗效预测。类器官技术的发展经历了漫长的探索历史, 其在临床医学中的应用和研究如火如荼, 相信其在临床医学中的应用前景也将十分广阔。

## 1 类器官的发展史

早在1907年, Wilson<sup>[1]</sup>就进行了体外生物体再生的第一次尝试, 他证明了分离的海绵细胞可以自组织的方式再生整个生物体。类器官的历史可以追溯到1975年, Rheinwald和Green<sup>[2]</sup>发现人原代角质形成细胞和3T3成纤维细胞的共培养物能形成类似于人表皮的分层鳞状上皮集落。1981年, 研究者首次从小鼠胚胎中分离出多能干细胞(pluripotent stem cells, PSC), 干细胞研究自此开始蓬勃发展<sup>[3]</sup>。此后研究者们开展了大量的工作, 掌握了如何在分子水平上控制干细胞和祖细胞的行为, 如沿着特定的方向进行分化和自我更新<sup>[4]</sup>。与此同时, 再生医学领域的研究也表明, 分离的干细胞可以分化成一种或多种所需的成熟细胞类型从而修复器官。这些进展促进了干细胞在体外重建器官

引用格式: 莫少波, 管若羽, 张龙, 等. 类器官在临床医学中的应用和研究进展. 中国科学: 生命科学, 2023, 53: 221–237

Mo S B, Guan R Y, Zhang L, et al. The application and research advances of organoids in clinical medicine (in Chinese). Sci Sin Vitae, 2023, 53: 221–237, doi: 10.1360/SSV-2021-0315

研究的萌芽<sup>[5]</sup>。

随着对细胞外基质(extracellular matrix, ECM)的深入理解和悬浮培养细胞方法的发展, 三维培养系统逐步建立和完善, 推动了类器官培养的发展。1987年, 研究人员开始在Engelbreth-Holm Swarm(EHS)肿瘤的重组基底膜上培养原代细胞来探索三维培养体系<sup>[6,7]</sup>。Li等人<sup>[6]</sup>发现在EHS基质上培养的乳腺上皮细胞可以形成导管和管腔, 并且具有合成和分泌乳蛋白的功能。Shannon等人<sup>[7]</sup>将成年大鼠Ⅱ型肺泡细胞与滋养层细胞在EHS基质上培养, 发现细胞-基质相互作用有助于Ⅱ型肺泡细胞保持其原有形态和维持分化。Eiraku等人<sup>[8]</sup>使用3D细胞聚集培养的方法从胚胎干细胞(embryonic stem cell, ESC)生成大脑皮层组织, 自此类器官研究开始从2D转向3D。

2009年, Hans课题组<sup>[9]</sup>的一项里程碑式研究表明, 成体肠道干细胞可以在基质胶中形成3D肠道类器官, 并能自组织并分化为隐窝绒毛结构。这是首次报道的使用单个成体干细胞实现3D类器官培养, 为其他系统中的许多后续类器官培养奠定了基础。目前已成功地建立了多种类器官模型: 胃肠道<sup>[9,10]</sup>、食管<sup>[11,12]</sup>、肝脏<sup>[13,14]</sup>、胰腺<sup>[15,16]</sup>、脑<sup>[17,18]</sup>、肺<sup>[19]</sup>、前列腺<sup>[20,21]</sup>、乳腺<sup>[22,23]</sup>、皮肤<sup>[24]</sup>、肾脏<sup>[25]</sup>、味蕾<sup>[26,27]</sup>、唾液腺<sup>[28,29]</sup>、角膜<sup>[30]</sup>等。除了正常组织, 研究者按照类似培养方法也构建了结肠癌<sup>[31]</sup>、前列腺癌<sup>[32]</sup>、胰腺癌<sup>[15]</sup>、食管癌<sup>[33]</sup>、脑胶质瘤<sup>[34]</sup>、宫颈癌<sup>[35]</sup>及鼻咽癌<sup>[36]</sup>等肿瘤类

器官模型(图1)。

类器官发展至今已赋予了丰富的内涵和时代意义, 健康/患者个体来源类器官培养体系的不断完善及不同组织来源类器官库的构建, 奠定了类器官在现代临床医学的独特地位, 推动了临床精准治疗领域的不断延伸发展。

## 2 类器官的模型优势

各类临床疾病研究模型一直是进行生命科学研究的重要工具, 很长时间里二维细胞模型和动物模型是模拟人类的发育和疾病的主要模型。细胞系的成本较低、操作简单、培养体系完善, 可以应用于多种实验技术, 如基因修饰和对药物或化合物的高通量筛选<sup>[37]</sup>。尽管在许多生物医学研究中被广泛采用, 但其由于来源单一、细胞组成同质性和缺乏信号转导因子等缺点, 使得利用细胞系进行的体外实验不能准确预测体内反应, 极大地限制了细胞系模型在临床医学中的应用和发展。

人源肿瘤异种移植模型(patient-derived tumor xenograft, PDX)是将患者的原发性肿瘤组织移植到免疫缺陷小鼠体内, 而肿瘤结构以及肿瘤细胞和基质细胞的相对比例基本保持不变的肿瘤模型<sup>[38]</sup>。PDX更好地保留了原代肿瘤的复杂性和异质性, 但PDX的建立效率低下, 并且早期肿瘤很难建立<sup>[39]</sup>。此外, PDX还具有

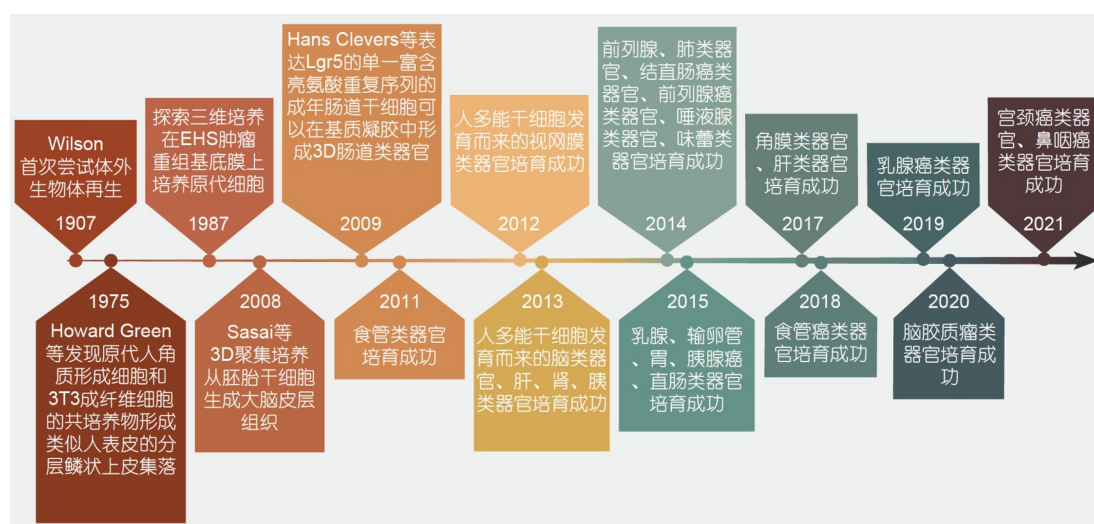


图1 类器官发展过程中的里程碑事件

Figure 1 Milestones for the development of organoid cultures

耗资耗力、培养周期长、效率低和高通量分析成本高昂等缺点<sup>[40]</sup>。因此, PDX模型目前并不能充分满足临床医学发展的需要。现代精准医学的发展, 亟需一种周期短、效率高、成本低, 并能准确反映疾病病理生理状态的模型。

类器官模型很好地贴合了临床医学发展需要。类器官是将干细胞接种在基质胶或基底膜提取物中, 并经过特定的细胞因子混合物作用, 培养获得的具有器官特异性的三维细胞培养产物<sup>[41]</sup>。类器官可以从两种干细胞中培养: (i) PSCs, 如ESCs和诱导多能干细胞(induced pluripotent stem cells, iPSCs); (ii) 成体干细胞(adult stem cells, ASCs)<sup>[41]</sup>。与细胞系相比, 类器官具有模拟原始组织的3D结构、异质性和细胞功能等方面的优势, 能更好地模拟人类疾病和预测药物反应。与PDX相比, 类器官可以快速扩增、冷冻保存并可以进行高通量分析<sup>[40]</sup>(图2)。综上, 具有多重优势的类器官在临床医学中的应用, 如模拟和研究疾病、评估治疗反应及指导临床治疗中具有更远大的前景。

### 3 类器官的临床应用及进展

#### 3.1 类器官在模拟和研究疾病方面的应用及进展

稳定的类器官培养体系为模拟和研究上皮组织来源的人类疾病创造了独特的条件。上皮自主性失调的内在因素及诱导细胞行为的外在因素独立或交互作用成为上皮组织疾病基础。为此, 基于类器官的人类疾病建模基本上侧重于根据疾病性质对以上两个疾病方面进行表型复制。上皮自主性失调(内在因素), 主要表现为遗传和表观遗传修饰以及细胞学表型, 如药物反应等。诱导细胞行为的外在因素可通过非上皮细胞(免疫细胞、微生物环境等)与上皮来源类器官共培养从而重新模拟并恢复上皮细胞与环境系统的“对话”。因此, 从临床疾病出发, 基于类器官的疾病建模将更有助于理解疾病生物学, 在类器官上模拟并研究疾病, 为临床实践提供更有价值的疾病信息。

(1) 类器官在遗传疾病建模及治疗中的临床应用及进展。近年来, 类器官已成为模拟和研究遗传疾病的重要工具, 包括从患者来源的组织活检中构建类器官模型以及使用CRISPR-Cas9技术在患者来源类器官上干预相关目的基因<sup>[42]</sup>。CRISPR-Cas9和类器官之间的“合作关系”, 以囊性纤维化(cystic fibrosis, CF)中缺

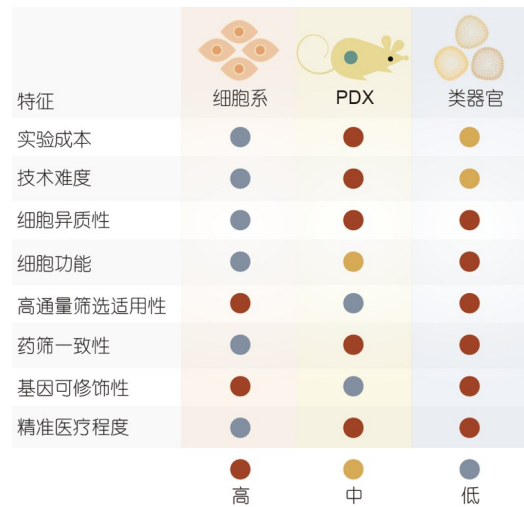


图2 类器官与其他临床疾病研究模型对比优势显著

Figure 2 Comparison of organoids with other model systems reveals unique advantages

陷CFTR序列的精确矫正为先导, 为解决与缺陷基因功能相关的人类疾病, 包括单基因疾病和大部分癌症, 铺平了新的道路。

CF是类器官模拟人类遗传疾病的经典范例。CF是由CF跨膜电导调节器(cystic fibrosis transmembrane conductance regulator, CFTR)基因突变失活引起的常染色体隐性遗传疾病<sup>[43]</sup>。Dekkers等人<sup>[44]</sup>从患者直肠中构建CF患者类器官模型并用于模拟和研究CF疾病。CFTR基因由环磷酸腺苷(cyclic adenosine monophosphate, cAMP)激活, 其水平受腺苷酸环化酶激活剂forskolin影响。CF患者直肠类器官对forskolin无响应, 但在与CFTR恢复化合物预孵育后或通过CRISPR-Cas9纠正CFTR突变后可恢复应答<sup>[44,45]</sup>。基于这一发现, Dekkers等人开发了一种forskolin诱导肿胀(forskolin induced swelling, FIS)试验, 开始用于针对CFTR基因的特定突变(包括罕见变异)筛选药物, 为CF患者创建个性化的治疗模式。

肺是另一个可能受到CF严重损害的器官。由于CFTR突变, 肺中会形成黏稠的黏液, 从而损害呼吸, 为病原体繁殖提供肥沃的环境, 导致过早呼吸衰竭。目前, 相关研究已通过不同方式成功构建了CF气道类器官模型<sup>[46-48]</sup>。CF患者的气道类器官黏液层增加, 重现疾病表型。与正常对照组的类器官相比, forskolin诱导的气道类器官肿胀减轻, 并可通过CFTR修复化合物

修复。然而,与CF患者来源的直肠类器官相比, forskolin诱导的肺CF类器官肿胀不仅依赖于CFTR,还受氯离子转运蛋白TMEM16A的影响, TMEM16A可作为CF患者的替代治疗靶点。因此,气道类器官可作为评估CF患者药物反应的个性化平台,尤其是作用于TMEM16A的药物<sup>[49]</sup>。Fabian是第一位使用肠道类器官技术获得帮助的CF患者。Hans团队<sup>[50]</sup>使用Fabian肠道干细胞培养了一个“迷你肠道”,以观察Kalydeco药物是否会打开“迷你肠道”的离子通道。体外研究结果奏效的同时, Fabian服用了相应治疗药物并在4 h内发挥了作用,这一令人振奋的结果证实了类器官技术在CF患者临床治疗中发挥着重要的作用。

目前,研究人员正在利用肠<sup>[44]</sup>、肺<sup>[46]</sup>、肝胆<sup>[51]</sup>、肾<sup>[25]</sup>和胰腺<sup>[52]</sup>生成的类器官开发和构建CF患者生物库。CF患者来源类器官作为模拟和研究该基因遗传性疾病的重要工具,在CF患者临床治疗上扮演着重要角色。然而,类器官CFTR基因修复和随后移植到患者体内目前临床应用仍存在需要解决的技术和伦理难题:CFTR功能的丧失导致多器官系统疾病,需要将类器官移植到多个组织部位;每个器官需要高比例的修复细胞才能恢复功能;类器官移植中的伦理问题存在争议,需要在研究领域达成共识。

(2) 类器官在肿瘤建模及研究中的临床应用及进展。肿瘤是在细胞内在因素(基因突变/染色体变异等)和外在因素(环境刺激等)多重作用下产生的具有异质性细胞群,并可不受控制地增殖、转移侵袭周围和远处的组织。癌细胞突变的不断累积导致肿瘤内具有相当大的遗传异质性<sup>[53]</sup>。既往研究表明,肿瘤异质性也可能是基因表达谱、表观遗传改变、代谢差异、蛋白/磷酸化蛋白表达差异的结果,被认为是目前常规癌症治疗失败的主要原因<sup>[54-56]</sup>。研究癌症的模型包括细胞系、动物模型和PDX,每种模型都有某些缺点,使其不适合用于疾病建模<sup>[57]</sup>。作为患者来源的肿瘤类器官模型,其较完美地保留了个体肿瘤的基因型及表型特征,成为目前肿瘤建模及研究领域的重要工具,促进了基于患者基因特征的个性化治疗进展<sup>[58,59]</sup>。

肿瘤类器官库的构建是探讨类器官在肿瘤建模及研究中的基础。本文回顾了近年来肿瘤类器官库的构建情况。目前,研究者们已相继构建了包括食管癌<sup>[33]</sup>、胃癌<sup>[60,61]</sup>、结直肠癌<sup>[62,63]</sup>、肝癌<sup>[14,64]</sup>、胰腺癌<sup>[15]</sup>、肺癌<sup>[65,66]</sup>、乳腺癌<sup>[67]</sup>、前列腺癌<sup>[32]</sup>、膀胱

癌<sup>[68]</sup>、肾癌<sup>[25]</sup>、宫颈癌<sup>[35]</sup>、卵巢癌<sup>[69]</sup>及鼻咽癌<sup>[36]</sup>等在内的患者来源肿瘤类器官库。尽管肿瘤类器官构建的成功率在很大程度上取决于活检/手术组织样本量、纯度和器官来源,但新鲜肿瘤组织中类器官模型的体外建立成功率通常介于30%~90%之间,远远超过了从相同组织中建立稳定癌细胞系的成功率<sup>[65,70]</sup>(表1)。

同时,患者来源类器官与原始肿瘤组织携带一致的分子指纹,肿瘤类器官作为患者肿瘤替代物的分子和表型可信性促进了其在功能分析中的应用,包括基于每位患者的基因干扰试验和药物筛选。从单个肿瘤细胞克隆生长的肿瘤类器官在克隆水平上捕获了肿瘤内基因突变的异质性和药物敏感性<sup>[82]</sup>。除了患者源性肿瘤类器官的巨大可能性外,染色体不稳定<sup>[83]</sup>或错配修复缺陷<sup>[84]</sup>的类器官在培养过程中不断累积染色体错误分离或复制错误,从而导致长期培养对肿瘤类器官基因组结构的影响。因此,冷冻保存早期传代类器官并避免其过度长期培养对于保存患者源性类器官中原始肿瘤的遗传特征并确保实验再现性至关重要。

患者源性类器官最重要的一项临床应用在于其评估患者临床治疗反应及指导临床用药的重要作用,下文将做详细阐述。

(3) 模拟疾病生态系统的类器官共培养体系发展。非上皮细胞的外在因素刺激导致上皮细胞功能失调亦是疾病发生发展的重要一环。对于仅由上皮细胞构成的类器官,探索不同细胞群之间的相互作用可能具有挑战性,同时更具临床应用前景。因此,为了理解疾病生态系统中的细胞多样性,相关研究已经将非上皮细胞纳入类器官培养系统。

肿瘤相关微环境系统与类器官共培养体系的发展为更好地研究肿瘤及免疫治疗奠定了重要基础。癌症相关成纤维细胞(cancer-associated fibroblasts, CAF)是肿瘤微环境中的一种肿瘤特异性基质成分,被认为在癌症生物学中具有多效性作用。相关研究表明,在CAF与胰腺癌类器官共培养体系中,胰腺CAF有助于肿瘤类器官生长<sup>[85,86]</sup>。同样地,在CAF与肝癌类器官的3D共培养模型中,研究结果显示了CAFs在肝癌培育和耐药性方面的强大作用<sup>[87]</sup>。以类似的方式,已经有几项研究尝试将肿瘤类器官与免疫细胞共培养。一项研究开发了外周血单个核细胞与非小细胞肺癌和高度微卫星不稳定性大肠癌类器官共同培养系统。在

表 1 常见肿瘤类器官库的构建情况

Table 1 List of organoid libraries derived from cancer patients

| 研究                                | 癌种       | 类器官成功率(%) | 体外研究类器官数目 | 临床治疗评估比较 | 药敏试验 |
|-----------------------------------|----------|-----------|-----------|----------|------|
| van de Wetering等人 <sup>[62]</sup> | 结直肠癌     | 90        | 19        | 无        | 有    |
| Vlachogiannis等人 <sup>[71]</sup>   | 转移性消化道肿瘤 | 未报道       | 21        | 有        | 有    |
| Schumacher等人 <sup>[72]</sup>      | 结直肠癌     | 未报道       | 38        | 无        | 有    |
| Ganesh等人 <sup>[73]</sup>          | 直肠癌      | 77        | 21        | 有        | 有    |
| Yao等人 <sup>[63]</sup>             | 进展期直肠癌   | 86        | 80        | 有        | 无    |
| Narasimhan等人 <sup>[74]</sup>      | 肠癌腹膜转移   | 68        | 15        | 有        | 有    |
| Derouet等人 <sup>[75]</sup>         | 食管腺癌     | 57        | 16        | 无        | 无    |
| Tiriac等人 <sup>[76]</sup>          | 胰腺癌      | 75        | 66        | 有        | 有    |
| Bian等人 <sup>[77]</sup>            | 胰腺癌      | 未报道       | 24        | 无        | 有    |
| Driehuis等人 <sup>[78]</sup>        | 胰腺癌      | 62        | 24        | 有        | 有    |
| Kopper等人 <sup>[69]</sup>          | 卵巢癌      | 65        | 21        | 有        | 有    |
| de Witte等人 <sup>[79]</sup>        | 卵巢癌      | 未报道       | 36        | 有        | 有    |
| Sachs等人 <sup>[67]</sup>           | 乳腺癌      | >80       | 28        | 无        | 有    |
| Driehuis等人 <sup>[80]</sup>        | 头颈部鳞状细胞癌 | 65        | 13        | 有        | 有    |
| Yan等人 <sup>[61]</sup>             | 胃癌       | >90       | 46        | 有        | 有    |
| Broutier等人 <sup>[64]</sup>        | 肝癌       | 未报道       | 8         | 无        | 有    |
| Shi等人 <sup>[66]</sup>             | 肺癌       | 88        | 57        | 无        | 有    |
| Kim等人 <sup>[81]</sup>             | 肺癌       | 83        | 84        | 有        | 有    |
| Lee等人 <sup>[68]</sup>             | 膀胱癌      | 70        | 16        | 无        | 有    |
| Ding等人 <sup>[36]</sup>            | 鼻咽癌      | 93        | 42        | 无        | 有    |

该系统中,可诱导产生自体肿瘤反应性T细胞,其也显示出特异性杀死肿瘤类器官,而匹配的正常类器官不受影响<sup>[88]</sup>。有研究者使用气液界面(air-liquid interface, ALI)系统直接从人或小鼠肿瘤活检中繁殖肿瘤类器官,保留免疫基质和原始肿瘤T细胞受体谱,并用于模拟免疫检查点阻断疗法<sup>[89]</sup>。在另一个例子中,胶质母细胞瘤活检被切成小块而不使用BME。这种方法在培养过程中保留了免疫细胞和内皮细胞,可用于检测CAR-T细胞治疗。然而,这些免疫细胞在长时间培养后是否仍具有功能目前仍不确定<sup>[34]</sup>。以上研究结果凸显了肿瘤相关微环境系统的重要性,而缺乏肿瘤微环境的肿瘤类器官,在一定程度上可能会限制患者癌症类器官作为治疗反应预测因子的效用<sup>[90]</sup>。

共培养系统的适应性进一步使人们能够研究上皮组织和微生物之间的相互作用,包括细菌<sup>[91]</sup>、肠道菌群<sup>[92]</sup>、寄生虫<sup>[93]</sup>、病毒<sup>[94]</sup>等。SARS-CoV-2迄今已导致世界范围内众多人员死亡。与SARS一样,冠状病毒

科的这一新成员主要因在呼吸道引起症状而闻名。因此,已使用气道来源类器官对该病毒进行了研究,包括上气道类器官衍生的ALI培养以及远端气道ASC类器官<sup>[95,96]</sup>。通过构建SARS-CoV-2与类器官共培养平台,研究SARS-CoV-2感染人体机制,为在相关生理模型中研究SARS-CoV-2感染的组织特异性动力学提供了一个有价值的平台,为临床治疗提供相关方案策略提供潜在可能性。

### 3.2 类器官在个性化医疗领域的应用及进展

在癌症治疗中,手术切除肿瘤前后都可能会使用局部或全身治疗手段,主要包括化疗、靶向治疗、放疗以及免疫治疗。不同患者受不同的遗传因素和环境因素影响,可能影响他们对临床治疗策略的反应。因此,在个性化模型系统中测试这些临床治疗手段的疗效和细胞毒性非常重要。基因-药物关联在个体化癌症治疗和靶向治疗中起着关键作用。van de Wetering等

人<sup>[62]</sup>的研究描述了基因突变状态和治疗反应之间的强烈相关性,即基于突变的药物敏感性.由于基因组学分析不足以确定大多数晚期癌症患者的有效治疗方案,因此对肿瘤类器官进行药物筛选可以阐明药物反应的未知因素<sup>[97]</sup>.为了确定肿瘤类器官在个体化癌症治疗中的临床应用,已经进行了大量肿瘤类器官的相关临床试验,如图3所示.本文整理了近年来通过中国临床试验注册中心(<http://www.chictr.org.cn/>)及美国临床试验注册网站(<https://clinicaltrials.gov/>)注册的利用患者类器官评估临床治疗反应的观察性研究,如表2所示.肿瘤类器官作为一项重要的临床“量尺”,目前已在各个癌种领域发挥着重要作用.

(1) 评估放化疗和/或靶向治疗反应.自从将类器官技术引入肿瘤临床转化研究以来,在开发患者源性食管肿瘤类器官培养的成功率差异很大<sup>[98]</sup>.Karakasheva等人<sup>[99]</sup>将其产生食管腺癌类器官的成功归因于在培养基中添加Wnt信号增强剂(胃泌素和CHIR99021)、Y-27632(Rho激酶抑制剂)和N-2补充剂,该操作使其成功率达到80%.相比之下,Li等人<sup>[33]</sup>报告生成食管腺癌类器官的成功率为31%.对于后者,应该考虑到他们的研究队列中包括新辅助治疗的患者,这类患者通常有较少(活的)肿瘤材料可用于类器官的培养.在同一研究中,Karakasheva等人<sup>[99]</sup>报告,与食管腺癌相比,食管鳞癌类器官使用更基本的培养基的成功率为60%,与同一组早期研究的成功率相对应<sup>[100]</sup>.总之,食管癌类器官可以在一个可接受的成功率范围内稳定提取,促使它们在临床环境中得以使用.Li等人<sup>[33]</sup>研究了表柔比星、顺铂和5-氟尿嘧啶(epirubicin, cisplatin and 5-fluorouracil, ECF)化疗方案的体外敏感性是否与体内反应相匹配.总的来说,大多数(6/8)的类器官对化疗方案不敏感,这与临床观察到的体内不良反应相一致.相反,两个来自治疗前(耐药)患者的类器官对这些药物表现出不可预见的治疗敏感性.然而,Li等人认为这种相互矛盾的结果可能是克隆选择过程的结果,克隆选择过程不可避免地发生在类器官培养过程中,并最终可能影响治疗反应.上述结果说明类器官作为化疗反应预测因子的潜力.同时,对于许多患者,新辅助放化疗(CROSS方案)被认为是局部晚期食管癌治疗的支柱.不幸的是,目前只有少数以类器官为基础的研究结合了化疗和放疗.然而,有研究组通过用一剂紫杉醇/卡铂治疗食管腺癌类器官并随后用7

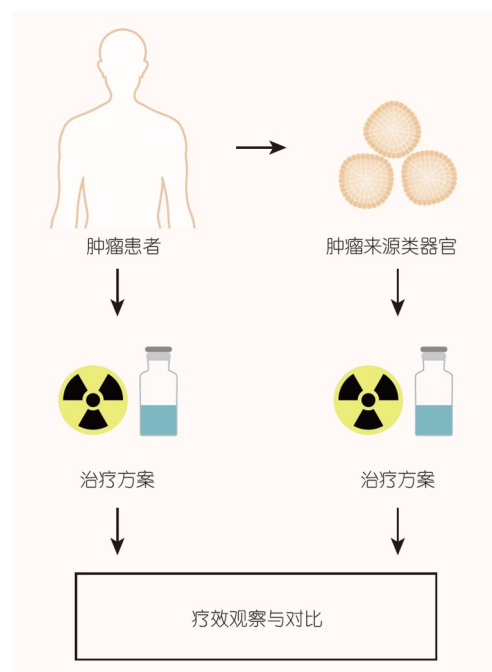


图3 患者源性类器官评估临床治疗反应模式图

Figure 3 Evaluation of patient-derived organoids for clinical treatment response.

个1 Gy的组分照射它们,成功地在体外模拟了多模式方法<sup>[101]</sup>.这是第一个证据表明食管癌类器官能够在体外模拟化疗(放疗)反应.

目前,直肠类器官已成功地从原发性、转移性或复发性疾病患者中获取.值得注意的是,与上消化道类器官的整体低成功率相比,直肠类器官形成效率明显更高<sup>[102]</sup>.Yao等人<sup>[63]</sup>已成功地建立了96个直肠类器官的生物文库,这些类器官来源于直肠癌治疗初期的患者,活检获取成功率为85.7%.他们验证了直肠类器官作为新辅助放化疗反应预测模型的应用.临床结果与至少一种治疗(放疗、5-FU和伊立替康)的体外敏感性之间有很强的相关性,准确率为84.43%,AUC为0.88.有趣的是,他们还采用了一种创新的方法来确定体外反应阈值.基于Youden指数和bootstrap样本,他们计算了治疗后的平均大小恢复率(使用亮场成像),以经验性地确定反应的最佳截止值.此外,他们回顾性地将体外敏感性值与患者治疗后的临床肿瘤回归分级数据相关联,以验证所建立的类器官平台的可靠性.Ganesh等人<sup>[73]</sup>的一项类似研究采用了另一种方法来比较类器官反应与临床结果.他们获得了5-FU或FOL-

表 2 在中国/美国临床试验数据库注册的利用患者类器官评估临床治疗反应的观察性临床试验

Table 2 Observational clinical trials using patient-derived organoids to evaluate clinical treatment response registered in the China/US clinical trial database

| 疾病       | 方式       | 入组人数 | 治疗评估                                                 | 参考来源             |
|----------|----------|------|------------------------------------------------------|------------------|
| 进展期胃癌    | 活检       | 59   | 化疗                                                   | ChiCTR2000028856 |
| 乳腺癌      | 活检/手术    | 100  | CAR-巨噬细胞                                             | NCT05007379      |
| 乳腺癌      | 活检/手术    | 300  | 化疗或靶向治疗                                              | NCT03925233      |
| 结直肠癌     | 活检       | 80   | 放化疗                                                  | NCT03577808      |
| 结直肠癌     | 活检       | 80   | 化疗, 西妥昔单抗                                            | NCT04906733      |
| 结直肠癌     | 活检/手术    | 52   | 化疗, 西妥昔单抗, 瑞戈非尼                                      | NCT04996355      |
| 结直肠癌     | 手术       | 120  | 辅助化疗, 新辅助治疗                                          | NCT04755907      |
| 子宫内膜癌    | 手术       | 20   | 化疗                                                   | ChiCTR1900023682 |
| 食管癌      | 超声胃镜定位活检 | 100  | 放化疗                                                  | NCT03283527      |
| 胃癌       | 手术       | 40   | 辅助化疗                                                 | ChiCTR2000028889 |
| 肾癌       | 手术       | 20   | 化疗                                                   | NCT04342286      |
| 肺癌       | 手术       | 30   | 放疗                                                   | NCT04859166      |
| 肺癌       | 手术       | 50   | 化疗或靶向治疗                                              | NCT03979170      |
| 肺癌       | 活检/手术    | 100  | 化疗或靶向治疗                                              | NCT03453307      |
| 肺癌       | 手术       | 150  | 化疗或靶向治疗                                              | NCT03655015      |
| 转移性消化道肿瘤 | 活检       | 100  | 14种药物筛选                                              | NCT04611035      |
| 前列腺癌     | 活检       | 20   | 抗肿瘤分子                                                | NCT03952793      |
| 多发性骨髓瘤   | 骨髓穿刺     | 70   | 化疗                                                   | NCT03890614      |
| 卵巢癌      | 活检       | 48   | 化疗                                                   | NCT04555473      |
| 卵巢癌      | 手术       | 30   | 化疗或靶向治疗                                              | NCT04768270      |
| 胰腺癌      | 超声内镜定位活检 | 50   | 美国食品和药物管理局(Food and Drug Administration, FDA)批准的部分药物 | NCT03544255      |
| 胰腺癌      | 手术       | 300  | 新辅助治疗                                                | NCT04777604      |
| 胰腺癌      | 手术       | 300  | 辅助化疗                                                 | NCT04736043      |
| 头颈部鳞状细胞癌 | 手术       | 98   | 创新疗法                                                 | NCT04261192      |

FOX体外化疗敏感性(标准化AUC)与患者无进展生存率之间的显著相关性。另一方面, 体外放射敏感性( $\geq 75\%$ 的AUC被认为是耐药,  $\leq 25\%$ 的AUC是敏感的)与放射前后进行的临床内镜评估相关。尽管这两项研究都强调了直肠类器官作为有前途的临床前预测工具的潜力, 但他们的治疗计划与标准的临床实践并不一致。例如, 单次辐射剂量被用来治疗类器官而不是分次治疗。尽管如此, Janakiraman等人<sup>[103]</sup>设计了一种结合5×2 Gy分割放疗方案(代表临床使用的1.8 Gy)和单剂量5-FU的治疗策略。他们还设法在短时间内评估了这种CRT方案的体外敏感性, 最终为临床应用打开了大门。

针对转移性结直肠癌类器官的相关研究表明, 转移性结直肠癌患者来源类器官能够预测80%以上的患者对伊立替康治疗的反应, 而不会对治疗有反应的患者进行错误分类。5-FU和奥沙利铂联合治疗的预测价值尚未确定。对此的一个可能解释是, 肿瘤微环境(基质细胞和免疫细胞)不存在于类器官中, 可能比其他治疗更影响该种治疗的疗效<sup>[104]</sup>。对结直肠癌腹膜转移类器官的治疗敏感性分析不能将FOLFOX治疗后临床部分缓解的患者与进展性疾病的患者区分开来。然而, 本研究中的大多数患者接受了术前化疗, 这可能导致选择化疗耐药亚克隆。两名未接受以奥沙利铂为基础治疗的患者类器官显示出对体外治疗的最高敏感性<sup>[74]</sup>。

结直肠癌腹膜转移类器官也被用于丝裂霉素C和奥沙利铂(通常用于腹腔热灌注治疗)体外药物治疗, 显示出普遍的耐药性, 和临床观察到的高复发率相对应<sup>[105]</sup>.

针对其他癌种, 如胰腺癌、肺癌等, 研究者相继构建了肿瘤类器官库并进行了药敏试验筛选. 他们将这些肿瘤类器官用于标准的临床治疗方案中, 从而发现类器官的敏感性与患者的临床反应平行. 此外, 基于类器官的化疗敏感性基因表达特征被开发出来, 以帮助预测晚期疾病对化疗的反应. 通过高通量药物筛选, 他们提出了化疗难治性类器官的替代治疗策略, 表明个体化治疗癌症的重要性.

(2) 免疫治疗. 临床上, 过继细胞疗法是一项很有前途的免疫疗法. 该疗法通过获取患者自体免疫细胞并在体外扩增, 随后将扩增的免疫细胞移植回患者体内, 从而增强患者自身对肿瘤的免疫反应. 在前期的研究中, 利用这一策略, 研究者通过体外扩增自体肿瘤浸润淋巴细胞(tumor-infiltrating lymphocytes, TIL)实现黑色素瘤的持久消退<sup>[106]</sup>. 然而, 这种方法需要切除标本, 从中可以获得TIL. 避免切除的一个策略是分离外周血淋巴细胞, 通过与肿瘤细胞共培养在体外激活这些细胞. 对于这种策略, 患者来源的类器官是一种非常有益的肿瘤细胞共培养来源: 肿瘤类器官培养可以通过活检从一个小的组织样本有效地建立, 肿瘤衍生的类器官是异质性的, 并再现了亲代肿瘤的遗传和组织学特征. 因此, Dijkstra等人<sup>[88]</sup>在与非小细胞肺癌和高度微卫星不稳定性大肠癌的肿瘤类器官共培养2周后, 能够从外周血淋巴细胞中获得肿瘤反应性T淋巴细胞. 在共培养前, 用IFN- $\gamma$ 刺激类器官以增强抗原呈递. 加入PD-1阻断抗体、IL-2和抗CD28增强T细胞活化. 共培养后, T淋巴细胞被激活, IFN- $\gamma$ 和CD107a的表达也证实了这一点. 因此, 活化T淋巴细胞与肿瘤类器官共培养3天后, 肿瘤类器官的存活率降低, 而匹配的正常类器官则不受影响. 这一方法细则同样也于2019年12月发布<sup>[107]</sup>. 同时, 研究者指出, 肿瘤和健康组织来源类器官可以通过针头活检和手术切除来构建. 成功率取决于肿瘤类型、起始材料的数量(如切除与活检)和治疗史. 由于成功率的可变性, 基于类器官的方法在研究目的和过继性T细胞转移方面的可行性和成本效益预计在肿瘤类型和患者群体之间有所不同, 在临床应用治疗过程中应仔细评估.

Neal等人<sup>[89]</sup>描述了使用气液界面培养肿瘤浸润淋巴细胞的肿瘤上皮类器官. 这一全新的类器官培养体系与传统(Clevers团队培养体系)培养体系有着本质的区别, 极大促进了类器官培养体系发展. 这种方法保留了原始的肿瘤T细胞受体谱, 并准确地模拟了免疫检查点阻断, 激发了肿瘤细胞毒性. 肿瘤类器官还可用于检查患者对PD-1/PD-L1检查点抑制剂的反应. Scognamiglio等人<sup>[108]</sup>在PD-L1阳性患者的患者源性脊索瘤类器官上测试了nivolumab. 他们发现, 这种检测比单独使用免疫组织化学的回顾分析方法提供了更多有价值的预后信息. 具有低突变负荷和稳定的肿瘤抗原呈递的肿瘤可能是嵌合抗原受体(chimeric antigen receptor, CAR)工程T细胞的合适靶点. 对于实体肿瘤, 需要临床前模型来进行CAR介导的细胞毒性试验. 最近, 一种基于荧光素酶的定量分析已被开发出来, 用于测试针对类器官的CAR-T细胞介导的细胞毒性<sup>[109]</sup>. 研究人员设计了靶向EGFRvIII的CARs, EGFRvIII是一种在实体瘤中广泛表达的新抗原. 在竞争性共培养实验中, EGFRvIII特异性CAR-NK细胞能有效地杀死肿瘤组织中表达EGFRvIII的类器官, 但不能杀死正常组织中的类器官. 最后, 研究组获得了靶向于CRC亚群抗原的CAR, 这些抗原在其拮抗剂RNF43/ZNRF3表达缺失时过度表达WNT配体受体FZD. 为了测试FZD特异性CARs可能的副作用, 他们评估了对正常结肠类器官以及RNF43和ZNRF3或APC缺陷的不同基因编辑类器官系的细胞毒性. 这些共培养实验表明, FZD特异性CAR-NK细胞的细胞溶解活性对突变的类器官细胞系没有特异性, 表明这种方法在治疗上可能有明显的副作用. 虽然还没有找到有效的靶点, 但该平台可以广泛应用于临床评价CAR的疗效和肿瘤特异性.

随着癌症免疫治疗在临床上发挥越来越重要的作用, 目前研究显示肿瘤类器官可用于模拟此类新疗法的效果. 然而, 尽管肿瘤类器官显示出未来研究的前景, 但仍应考虑一些重要的局限性, 包括肿瘤的复杂性、共培养条件的限制等. 为此, 未来研究人员的一个重点是进一步优化共培养条件, 包括培养基组成和使用的ECM类型等因素.

综上所述, 肿瘤类器官目前为几乎任何器官的人类上皮细胞培养提供了最精确的体外系统, 肿瘤类器官与免疫细胞的共培养已成为肿瘤患者个体化免疫治

疗的一种很有前景的策略，并将在未来的临床与转化研究中显示出巨大的前景。

3.3 指导临床治疗

相较于传统细胞系或PDX模型，类器官在指导临床治疗上具有其独特优势。如图4所示，通过获取患者源性肿瘤类器官，进行治疗方案的筛选，获得有效的治疗策略，从而指导临床治疗，提高患者临床预后。目前尚无前瞻性临床试验结果发表。通过检索已在中国和美国临床试验注册网站注册的临床试验项目发现，共有4项在研干预试验，如表3所示。

来自中国上海长海医院的2项III期临床试验研究旨在探索在类器官药敏试验结果指导下的辅助化疗方案是否能改善胰腺癌的预后(NCT04931394)，以及在类器官药敏试验结果指导下的化疗方案是否能改善晚期胰腺癌的预后(NCT04931381)。在NCT04931394试验中，研究者将平行随机入组2组患者共200名，即实验组和对照组。采集两组患者手术标本构建胰腺癌类器官并于体外测试胰腺癌一线化疗药物(吉西他滨、5-氟尿嘧啶、紫杉醇、奥沙利铂、伊立替康)的敏感性。实验组将根据胰腺癌类器官药敏检测结果，患者将接受相对敏感的化疗方案。辅助化疗应在术后2个月内开始，至少持续6个月。对照组根据国家综合癌症网络(National Comprehensive Cancer Network, NCCN)胰腺导管腺癌指南，医生将决定辅助化疗方案。他们也不知道药物敏感性测试结果。辅助化疗应在术后2个月内开始，至少持续6个月。研究的主要终点是从随机化日期到复发的时间或死亡时间。在NCT04931381试验中，晚期胰腺癌患者将被平行随机分为实验组和对照组，通过活检采集患者组织标本构建胰腺癌类器官，并于体外测试胰腺癌一线化疗药物(吉西他滨、5-氟尿嘧啶、紫杉醇、奥沙利铂、伊立替康)的敏感性。实验组根据检测结果，患者将接受相对敏感的化疗方案。化疗

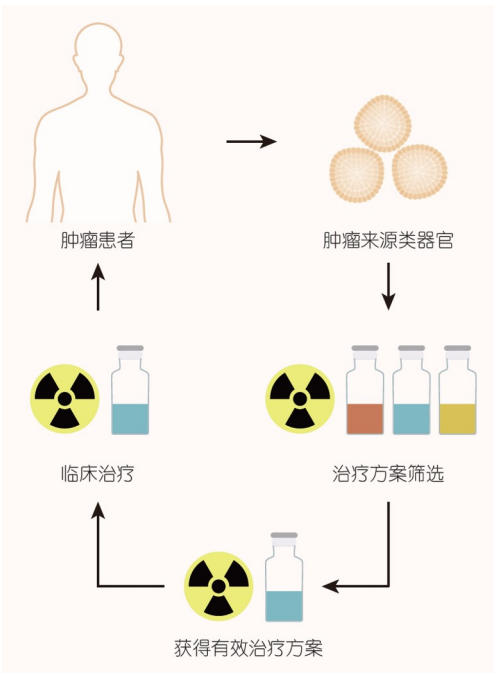


图 4 患者源性类器官指导临床治疗模式图  
Figure 4 Strategy of patient-derived-organoid-guided clinical treatment

应在活检后1个月内开始，并至少给予1个周期。对照组则根据NCCN胰腺导管腺癌指南，医生将决定化疗方案。他们也不知道药物敏感性测试结果。化疗应在活检后1个月内开始，并至少给予1个周期。研究的主要终点是比较获得完全缓解(complete response, CR)、部分缓解(partial response, PR)或稳定疾病(stable disease, SD)患者的百分比。

另外两项研究分别针对难治性实体瘤以及乳腺癌患者。来自新加坡的NCT04279509研究将入组35名难治性实体瘤患者(头颈部肿瘤、卵巢癌或肠癌)通过活检获取组织标本进行类器官培养及药敏试验，对患者来源的肿瘤类器官进行高通量药敏筛查并帮助癌症患者选择治疗方案。研究的主要终点是总体药物响应率。

表 3 在中国/美国临床试验数据库注册的利用患者类器官指导临床治疗的干预性临床试验

Table 3 Interventional clinical trials using patient-derived organoids to guide clinical treatments registered in the China/US clinical trial database

| 疾病     | 方式 | 干预模式  | 入组人数 | 治疗评估    | 临床试验阶段 | 参考来源        |
|--------|----|-------|------|---------|--------|-------------|
| 胰腺癌    | 手术 | 平行入组  | 200  | 辅助化疗    | 3期     | NCT04931394 |
| 胰腺癌    | 活检 | 平行入组  | 100  | 化疗      | 3期     | NCT04931381 |
| 难治性实体瘤 | 活检 | 单臂治疗组 | 35   | 化疗      | 未报道    | NCT04279509 |
| 乳腺癌    | 活检 | 单臂治疗组 | 50   | 化疗或靶向治疗 | 未报道    | NCT03544047 |

来自北京的NCT03544047研究将入组50名乳腺癌患者, 通过活检获取组织标本进行类器官培养及药敏试验。患者首先接受紫杉醇(paclitaxel, PTX)化疗3个周期(2周方案), HER2患者接受赫赛汀治疗。3个周期后, 如果肿瘤在前3个周期继续缩小, 则继续紫杉醇化疗3个周期(6周), HER2扩增患者接受赫赛汀治疗。如果疗效评价为SD或疾病进展(progressive disease, PD), 根据该类器官的药物敏感性结果, 结合临床实践, 医生选择最敏感的治疗方案, 并继续2个周期的治疗(6周)。研究的主要终点是总应答率(overall response rate, ORR), 即CR+PR, 根据实体瘤疗效评估标准(RECIST 1.1)进行评估。

我们期待以上前瞻性干预试验的结果发布, 同时, 更寄希望于更多前瞻性干预临床试验在各个癌种开展, 从而验证患者类器官在指导临床治疗中的作用。

## 4 类器官在临床医学的潜在发展前景

作为一项重要的临床应用“量尺”, 类器官的时效性和再现性一直在突破和发展。首先, 时效性强调了快速获得可靠数据结果, 即尽可能缩短从活检/手术时间到知道最适合患者的治疗类型的快速周转时间。类器官的培养包括对每个患者组织标本进行单独消化、提取培养和传代, 因此, 更加自动化的类器官构建体系将更具成效。此外, 现有的传统类器官培养体系精确复刻诱导器官发生的微环境能力有限, 这可能导致一些发育变异<sup>[5]</sup>。未来, 成分尚不明确的Matrigel可能被更复杂更精确的3D装置所替代从而更好地模拟体内环境。目前, 相关技术革新正在为其中一些限制提供解决方案。

### 4.1 高通量药敏筛选

高通量药敏筛选方法允许快速药物筛选, 尽可能在最短时间内获得药物反应结果。譬如, 相关一体化机器已成功应用于类器官药物筛选, 可自动进行干细胞分离培养类器官并进行药敏试验<sup>[61,110]</sup>。最近, Phan等人<sup>[111]</sup>介绍了一种小型化的方法, 它使用一种简化的几何结构, 即在阱(迷你环)边缘周围种植细胞。这允许以与自动化兼容的格式进行高通量筛查。他们使用从两个卵巢和一个腹膜高级别浆液性癌和一个卵巢癌肉瘤中建立的4个患者源性肿瘤类器官, 使用自动筛选平

台, 通过测量暴露于240种激酶抑制剂后类器官的活性、数量和大小来确定个性化反应。该高通量药敏筛选能够在手术后一周内获得药物反应结果, 这是一个与临床治疗决策相一致的时间表。同样地, Hu等人<sup>[112]</sup>开发了全新的肺癌类器官高通量药敏筛选方法, 通过使用集成超疏水微孔阵列芯片(InSMAR芯片), 足以在一周内产生具有临床意义的药物反应。结果证明, 为期一周的药物试验与患者来源的异种移植物、肿瘤基因突变和临床结果非常一致。肺癌类器官模型与微孔装置相结合, 为临床治疗中预测患者特异性药物反应提供了一种技术上可行的方法。

### 4.2 类器官芯片

随着类器官生长, 每个类器官的核心离营养培养基越来越远, 导致营养缺乏。此外, 未清除的废物堆积也会导致类器官核心的细胞死亡<sup>[113]</sup>。这些限制可以通过称为类器官芯片技术, 将营养输送到每个类器官的中心, 并清除核心产生的废物, 从而解决上述问题。同时, 类器官芯片通过将基本元件和功能单元组合在一起对器官进行再创造, 包括不同的细胞类型、结构组织和微环境<sup>[114]</sup>。类器官芯片即微流体技术, 可在小范围内精确控制和操纵流体, 可以精确地创建形态发生梯度, 并促进精确的类器官发育<sup>[115]</sup>。因此, 类器官芯片模型提供了一种方法, 通过这种方法可以解决传统类器官培养的一些缺点。传统类器官培养中缺乏脉管系统会导致两个问题, 即氧气供应和类器官内核的营养供应和废物清除。具有双微通道的微流控装置的类器官芯片模型, 可作为体内器官脉管系统的理想替代品。

随着上述技术的进步, 未来可能会出现可用于高通量分析的高度重复性芯片实验室模型, 从而使类器官实验数据能够快速再现。随着个性化用药发展, 类器官芯片模型可用于临床治疗中的个性化药物测试。它们还可以通过废除由于动物模型和单一培养环境的变化而可能通过筛选系统的“假阳性”药物, 从而帮助提高临床决策的准确性。

## 5 类器官在临床医学应用中所面临的挑战

类器官在临床医学应用中发展日新月异, 同时亦面临来自各方面的挑战。首先, 类器官培养技术及方

法在每个实验室各不相同, 由于其所需生长因子价格昂贵, 部分实验室为降低研究成本而开发使用了成本效益高的小分子化合物来替代<sup>[40,116,117]</sup>. 这一举措虽然在一定程度上降低了研究开发成本, 但同时也将导致各大实验室的类器官研究出现不同程度的实验结果数据差异.

其次, 获取纯肿瘤类器官是目前各大实验室人员面临的另一大重要挑战. 研究表明, 肿瘤患者来源的类器官, 无论是表型上还是遗传上, 都与它们衍生的肿瘤上皮相似. 肿瘤来源的类器官本身的生长速度并不快于与其配对的正常组织来源的类器官生长速度. 而且, 恰恰相反, 在许多情况下肿瘤来源类器官生长速度甚至较慢, 有学者表示可能是由于有丝分裂失败和随后的细胞死亡率较高<sup>[118]</sup>. 这提示人们在进行肿瘤组织来源的类器官培养时, 应避免正常组织来源的类器官“污染”. 因此, 研究者在提取肿瘤类器官时必须使用纯肿瘤组织材料, 或在选择性培养基条件下培养类器官以获取纯肿瘤来源类器官. 例如, 在绝大多数结直肠癌中, WNT信号通路中存在激活突变<sup>[119]</sup>. 在这些情况下, 可通过使用缺乏WNT和R-spondins(R-spondins是正常组织来源的结肠类器官的必需生长因子<sup>[120]</sup>)的培养基进行条件培养, 选择性筛选获得纯肠癌组织来源的类器官. 类似地, EGF受体(EGFR)信号通路突变的肿瘤可通过减少EGF进行条件性培养<sup>[118,121,122]</sup>. 小分子nutlin-3通过破坏p53与其负性调节因子E3泛素连接酶MDM2的结合来稳定p53, 已被用作从TP53突变癌类器官培养物中去除TP53野生型健康细胞的策略<sup>[67,118]</sup>. 然而, 当这种条件性选择培养的方法不可用时, 使用纯肿瘤组织细胞作为起始材料提取类器官是一个先决条件.

最后, 患者来源的类器官在生物库中的储存和扩展, 涉及一系列关于知情同意和所有权的伦理问题<sup>[123]</sup>. 对于类器官生物库, 需要患者同意. 最常见的一种患者同意仅限于特定研究目的使用患者材料. 然而, 生物库对于多个领域的研究人员来说是有用的, 并且在多个领域的组合中使用生物库可以提供潜在的协同数据. 为了解决这个问题, Bredenoord等人<sup>[123,124]</sup>建议将广泛的同意用于管理类器官库. 这种广泛的同意将使捐赠者在获得有关建立和管理生物库的相关信息后, 能够就如何使用其样本作出知情的决定. 另一个随着生物库的发展而出现的问题是所有权. 类器官越

来越多地被商业团体用作药物开发或验证研究的工具. 这种用途将不可避免地产生可申请专利的化合物. 在生物库的管理中, 将知识产权的任何财务收益在利益相关者之间的分配纳入法规可能会有所帮助.

## 6 总结与展望

类器官技术的不断发展为临床医学提供了新的手段和可靠工具. 患者源性类器官可以作为模拟和研究疾病模型, 帮助临床医生更好地理解相关疾病病理生理, 从而提供潜在的治疗策略. 同时, 许多研究表明, 肿瘤类器官反应和患者对癌症治疗的反应之间存在着良好的相关性. 因此, 肿瘤患者类器官可以为药物筛选提供更准确的平台, 帮助和指导临床医生为癌症患者选择最合适的治疗方案, 提高患者临床预后. 高通量药物筛选和类器官芯片新技术兴起和发展为促进类器官广泛应用于临床提供了更多可能.

然而, 作为一种新兴技术, 类器官技术仍有一些问题亟待解决. (i) 尽管相对于PDX技术, 类器官模型的培养成本已经相对较低, 但相对于细胞系模型, 类器官培养体系中所使用的基质胶以及培养基所添加的各种因子仍较为昂贵. (ii) 目前的类器官培养体系在肿瘤微环境, 包括肿瘤间质细胞以及免疫细胞的细胞保留以及细胞功能保留方面仍不能令人满意, 严重限制了类器官技术在肿瘤微环境研究方面的应用. (iii) 类器官的培养成功率受限于干细胞龛细胞团的提取成功率, 以及目前相对通用的培养基无法满足同一组织不同分型(亚型)的类器官的培养. 这导致在基于类器官的精准医学研究中不能保证每位患者的类器官都能培养成功, 从而限制了其发展.

未来类器官技术的发展可能有: (i) 基质胶在类器官培养中起关键作用的成分的明确以及工业合成, 或者随着材料技术的发展, 工业合成的基质胶替代材料的发展, 可以解决基质胶的昂贵成本; 随着基础研究的发展, 相关昂贵细胞因子可以通过采用相关信号通路小分子激活剂(或者抑制剂)的方式被低成本小分子替代. (ii) 随着全息扫描技术、3D打印以及材料技术的发展, 更为复杂的3D支撑材料的应用可能可以满足肿瘤微环境的保留的需求. 例如, 肿瘤组织类器官培养过程中, 通过全息扫描获得类器官中不同组织的分布, 应用新材料通过3D打印制作组织支架, 在组织支

架上分别偶联肿瘤细胞、间质细胞以及免疫细胞存活及功能发挥所必需的缓释因子, 将组织分解之后实现组织细胞“归巢”, 复刻肿瘤组织模型, 从而实现类器官培养体系在肿瘤微环境方面的广泛应用. (iii) 干细胞龕细胞团提取技术的发展, 可能突破目前广泛采用的细胞连接消化的方法, 使用更高效的技术实现对干细胞龕细胞团的提取, 从而提高类器官培养成功率;

通过对组织中不同分型(亚型)组织的基础研究及生长微环境因子的提取、鉴定和模拟, 实现不同分型(亚型)组织类器官的“个性化”培养, 从而提高类器官培养成功率.

类器官技术作为一种有漫长的探索史和目前尚短暂的发展史的转化实用型技术, 在技术本身以及配套技术的发展推动下, 其发展前景必将波澜壮阔.

## 参考文献

- 1 Wilson H V. A new method by which sponges may be artificially reared. [Science](#), 1907, 25: 912–915
- 2 Rheinwald J G, Green H. Serial cultivation of strains of human epidermal keratinocytes: the formation of keratinizing colonies from single cells. [Cell](#), 1975, 6: 331–343
- 3 Zhu Z X, Yan Z Q, Yu S Z, et al. Studies on the phenomenon of latent propagated sensation along the channels I. The discovery of a latent PSC and a preliminary study of its skin electrical conductance. [Am J Chin Med](#), 1981, 09: 216–224
- 4 Murry C E, Keller G. Differentiation of embryonic stem cells to clinically relevant populations: Lessons from embryonic development. [cell](#), 2008, 132: 661–680
- 5 Rossi G, Manfrin A, Lutolf M P. Progress and potential in organoid research. [Nat Rev Genet](#), 2018, 19: 671–687
- 6 Li M L, Aggeler J, Farson D A, et al. Influence of a reconstituted basement membrane and its components on casein gene expression and secretion in mouse mammary epithelial cells. [Proc Natl Acad Sci USA](#), 1987, 84: 136–140
- 7 Shannon J M, Mason R J, Jennings S D. Functional differentiation of alveolar type II epithelial cells *in vitro*: effects of cell shape, cell-matrix interactions and cell-cell interactions. [Biochim Biophys Acta](#), 1987, 931: 143–156
- 8 Eiraku M, Watanabe K, Matsuo-Takasaki M, et al. Self-organized formation of polarized cortical tissues from ESCs and its active manipulation by extrinsic signals. [Cell Stem Cell](#), 2008, 3: 519–532
- 9 Sato T, Vries R G, Snippert H J, et al. Single Lgr5 stem cells build crypt-villus structures *in vitro* without a mesenchymal niche. [Nature](#), 2009, 459: 262–265
- 10 Bartfeld S, Bayram T, van de Wetering M, et al. *In vitro* expansion of human gastric epithelial stem cells and their responses to bacterial infection. [Gastroenterology](#), 2015, 148: 126–136.e6
- 11 Trisno S L, Philo K E D, McCracken K W, et al. Esophageal organoids from human pluripotent stem cells delineate Sox2 functions during esophageal specification. [Cell Stem Cell](#), 2018, 23: 501–515.e7
- 12 Bailey D D, Zhang Y, van Soldt B J, et al. Use of hPSC-derived 3D organoids and mouse genetics to define the roles of YAP in the development of the esophagus. [Development](#), 2019, 146: dev178855
- 13 Wang S, Wang X, Tan Z, et al. Human ESC-derived expandable hepatic organoids enable therapeutic liver repopulation and pathophysiological modeling of alcoholic liver injury. [Cell Res](#), 2019, 29: 1009–1026
- 14 Hu H, Gehart H, Artegiani B, et al. Long-term expansion of functional mouse and human hepatocytes as 3D organoids. [Cell](#), 2018, 175: 1591–1606.e19
- 15 Boj S F, Hwang C I, Baker L A, et al. Organoid models of human and mouse ductal pancreatic cancer. [Cell](#), 2015, 160: 324–338
- 16 Molnár R, Madácsy T, Varga Á, et al. Mouse pancreatic ductal organoid culture as a relevant model to study exocrine pancreatic ion secretion. [Lab Invest](#), 2020, 100: 84–97
- 17 Lancaster M A, Renner M, Martin C A, et al. Cerebral organoids model human brain development and microcephaly. [Nature](#), 2013, 501: 373–379
- 18 Camp J G, Badsha F, Florio M, et al. Human cerebral organoids recapitulate gene expression programs of fetal neocortex development. [Proc Natl Acad Sci USA](#), 2015, 112: 15672–15677
- 19 Chen Y W, Huang S X, de Carvalho A L R T, et al. A three-dimensional model of human lung development and disease from pluripotent stem cells. [Nat Cell Biol](#), 2017, 19: 542–549

- 20 Karthaus W R, Iaquinta P J, Drost J, et al. Identification of multipotent luminal progenitor cells in human prostate organoid cultures. *Cell*, 2014, 159: 163–175
- 21 Drost J, Karthaus W R, Gao D, et al. Organoid culture systems for prostate epithelial and cancer tissue. *Nat Protoc*, 2016, 11: 347–358
- 22 Mollica P A, Booth-Creech E N, Reid J A, et al. 3D bioprinted mammary organoids and tumoroids in human mammary derived ECM hydrogels. *Acta Biomater*, 2019, 95: 201–213
- 23 Rosenbluth J M, Schackmann R C J, Gray G K, et al. Organoid cultures from normal and cancer-prone human breast tissues preserve complex epithelial lineages. *Nat Commun*, 2020, 11: 1711
- 24 Lee J, Rabbani C C, Gao H, et al. Hair-bearing human skin generated entirely from pluripotent stem cells. *Nature*, 2020, 582: 399–404
- 25 Schutgens F, Rookmaaker M B, Margaritis T, et al. Tubuloids derived from human adult kidney and urine for personalized disease modeling. *Nat Biotechnol*, 2019, 37: 303–313
- 26 Guo Q, Chen S, Rao X, et al. Inhibition of SIRT1 promotes taste bud stem cell survival and mitigates radiation-induced oral mucositis in mice. *Am J Transl Res*, 2019, 11: 4789–4799
- 27 Ren W, Lewandowski B C, Watson J, et al. Single Lgr5- or Lgr6-expressing taste stem/progenitor cells generate taste bud cells *ex vivo*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2014, 111: 16401–16406
- 28 Nanduri L S Y, Baanstra M, Faber H, et al. Purification and *ex vivo* expansion of fully functional salivary gland stem cells. *Stem Cell Rep*, 2014, 3: 957–964
- 29 Nagle P W, Hosper N A, Barazzuol L, et al. Lack of DNA damage response at low radiation doses in adult stem cells contributes to organ dysfunction. *Clin Cancer Res*, 2018, 24: 6583–6593
- 30 Susaimanickam P J, Maddileti S, Pulimamidi V K, et al. Generating minicorneal organoids from human induced pluripotent stem cells. *Development*, 2017, doi: 10.1242/dev.143040
- 31 Fujii M, Sato T. Culturing intestinal stem cells: Applications for colorectal cancer research. *Front Genet*, 2014, 5: 169
- 32 Gao D, Vela I, Sboner A, et al. Organoid cultures derived from patients with advanced prostate cancer. *Cell*, 2014, 159: 176–187
- 33 Li X, Francies H E, Secrier M, et al. Organoid cultures recapitulate esophageal adenocarcinoma heterogeneity providing a model for clonality studies and precision therapeutics. *Nat Commun*, 2018, 9: 2983
- 34 Jacob F, Salinas R D, Zhang D Y, et al. A patient-derived glioblastoma organoid model and biobank recapitulates inter- and intra-tumoral heterogeneity. *Cell*, 2020, 180: 188–204.e22
- 35 Löhmußaar K, Oka R, Espejo Valle-Inclán J, et al. Patient-derived organoids model cervical tissue dynamics and viral oncogenesis in cervical cancer. *Cell Stem Cell*, 2021, 28: 1380–1396.e6
- 36 Ding R B, Chen P, Rajendran B K, et al. Molecular landscape and subtype-specific therapeutic response of nasopharyngeal carcinoma revealed by integrative pharmacogenomics. *Nat Commun*, 2021, 12: 3046
- 37 Nagle P W, Plukker J T M, Muijs C T, et al. Patient-derived tumor organoids for prediction of cancer treatment response. *Semin Cancer Biol*, 2018, 53: 258–264
- 38 Byrne A T, Alf  rez D G, Amant F, et al. Interrogating open issues in cancer precision medicine with patient-derived xenografts. *Nat Rev Cancer*, 2017, 17: 254–268
- 39 John T, Kohler D, Pintilie M, et al. The ability to form primary tumor xenografts is predictive of increased risk of disease recurrence in early-stage non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res*, 2011, 17: 134–141
- 40 Li Y, Tang P, Cai S, et al. Organoid based personalized medicine: from bench to bedside. *Cell Regen*, 2020, 9: 21
- 41 Clevers H. Modeling development and disease with organoids. *Cell*, 2016, 165: 1586–1597
- 42 Fujii M, Clevers H, Sato T. Modeling human digestive diseases with CRISPR-Cas9-modified organoids. *Gastroenterology*, 2019, 156: 562–576
- 43 Stutts M J, Canessa C M, Olsen J C, et al. CFTR as a cAMP-dependent regulator of sodium channels. *Science*, 1995, 269: 847–850
- 44 Dekkers J F, Wiegerinck C L, de Jonge H R, et al. A functional CFTR assay using primary cystic fibrosis intestinal organoids. *Nat Med*, 2013, 19: 939–945
- 45 Schwank G, Koo B K, Sasselli V, et al. Functional repair of CFTR by CRISPR/Cas9 in intestinal stem cell organoids of cystic fibrosis patients. *Cell Stem Cell*, 2013, 13: 653–658
- 46 Firth A L, Menon T, Parker G S, et al. Functional gene correction for cystic fibrosis in lung epithelial cells generated from patient iPSCs. *Cell Rep*, 2015, 12: 1385–1390

- 47 Fulcher M L, Gabriel S, Burns K A, et al. Well-differentiated human airway epithelial cell cultures. In: Picot J, ed. *Human Cell Culture Protocols. Methods in Molecular Medicine*. New York: Humana Press, 2005. 183–206
- 48 Sachs N, Papaspyropoulos A, Zomer-van Ommen D D, et al. Long-term expanding human airway organoids for disease modeling. *EMBO J*, 2019, 38: e100300
- 49 Sondo E, Caci E, Galiotta L J V. The TMEM16A chloride channel as an alternative therapeutic target in cystic fibrosis. *Int J Biochem Cell Biol*, 2014, 52: 73–76
- 50 Saini A. Cystic fibrosis patients benefit from mini guts. *Cell Stem Cell*, 2016, 19: 425–427
- 51 Sampaziotis F, Cardoso de Brito M, Madrigal P, et al. Cholangiocytes derived from human induced pluripotent stem cells for disease modeling and drug validation. *Nat Biotechnol*, 2015, 33: 845–852
- 52 Simsek S, Zhou T, Robinson C L, et al. Modeling cystic fibrosis using pluripotent stem cell-derived human pancreatic ductal epithelial cells. *Stem Cells Transl Med*, 2016, 5: 572–579
- 53 Hanahan D, Weinberg R A. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell*, 2011, 144: 646–674
- 54 McGranahan N, Swanton C. Biological and therapeutic impact of intratumor heterogeneity in cancer evolution. *Cancer Cell*, 2015, 27: 15–26
- 55 Fan H, Demirci U, Chen P. Emerging organoid models: leaping forward in cancer research. *J Hematol Oncol*, 2019, 12: 142
- 56 Stratton M R, Campbell P J, Futreal P A. The cancer genome. *Nature*, 2009, 458: 719–724
- 57 Dutta D, Heo I, Clevers H. Disease modeling in stem cell-derived 3D organoid systems. *Trends Mol Med*, 2017, 23: 393–410
- 58 Sachs N, Clevers H. Organoid cultures for the analysis of cancer phenotypes. *Curr Opin Genet Dev*, 2014, 24: 68–73
- 59 Fujii M, Sato T. Somatic cell-derived organoids as prototypes of human epithelial tissues and diseases. *Nat Mater*, 2021, 20: 156–169
- 60 Seidlitz T, Merker S R, Rothe A, et al. Human gastric cancer modelling using organoids. *Gut*, 2019, 68: 207–217
- 61 Yan H H N, Siu H C, Law S, et al. A comprehensive human gastric cancer organoid biobank captures tumor subtype heterogeneity and enables therapeutic screening. *Cell Stem Cell*, 2018, 23: 882–897.e11
- 62 van de Wetering M, Francies H E, Francis J M, et al. Prospective derivation of a living organoid biobank of colorectal cancer patients. *Cell*, 2015, 161: 933–945
- 63 Yao Y, Xu X, Yang L, et al. Patient-derived organoids predict chemoradiation responses of locally advanced rectal cancer. *Cell Stem Cell*, 2020, 26: 17–26.e6
- 64 Broutier L, Mastrogiorganni G, Verstegen M M, et al. Human primary liver cancer-derived organoid cultures for disease modeling and drug screening. *Nat Med*, 2017, 23: 1424–1435
- 65 Kim M, Mun H, Sung C O, et al. Patient-derived lung cancer organoids as *in vitro* cancer models for therapeutic screening. *Nat Commun*, 2019, 10: 3991
- 66 Shi R, Radulovich N, Ng C, et al. Organoid cultures as preclinical models of non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res*, 2020, 26: 1162–1174
- 67 Sachs N, de Ligt J, Kopper O, et al. A living biobank of breast cancer organoids captures disease heterogeneity. *Cell*, 2018, 172: 373–386.e10
- 68 Lee S H, Hu W, Matulay J T, et al. Tumor evolution and drug response in patient-derived organoid models of bladder cancer. *Cell*, 2018, 173: 515–528.e17
- 69 Kopper O, de Witte C J, Löhmußaar K, et al. An organoid platform for ovarian cancer captures intra- and interpatient heterogeneity. *Nat Med*, 2019, 25: 838–849
- 70 Tsai S, McOlash L, Palen K, et al. Development of primary human pancreatic cancer organoids, matched stromal and immune cells and 3D tumor microenvironment models. *BMC Cancer*, 2018, 18: 335
- 71 Vlachogiannis G, Hedayat S, Vatsiou A, et al. Patient-derived organoids model treatment response of metastatic gastrointestinal cancers. *Science*, 2018, 359: 920–926
- 72 Schumacher D, Andrieux G, Boehnke K, et al. Heterogeneous pathway activation and drug response modelled in colorectal-tumor-derived 3D cultures. *PLoS Gene*, 2019, 15: e1008076
- 73 Ganesh K, Wu C, O'Rourke K P, et al. A rectal cancer organoid platform to study individual responses to chemoradiation. *Nat Med*, 2019, 25: 1607–1614
- 74 Narasimhan V, Wright J A, Churchill M, et al. Medium-throughput drug screening of patient-derived organoids from colorectal peritoneal metastases to direct personalized therapy. *Clin Cancer Res*, 2020, 26: 3662–3670
- 75 Derouet M F, Allen J, Wilson G W, et al. Towards personalized induction therapy for esophageal adenocarcinoma: organoids derived from

- endoscopic biopsy recapitulate the pre-treatment tumor. *Sci Rep*, 2020, 10: 14514
- 76 Tiriac H, Belleau P, Engle D D, et al. Organoid profiling identifies common responders to chemotherapy in pancreatic cancer. *Cancer Discov*, 2018, 8: 1112–1129
  - 77 Bian B, Juiz N A, Gayet O, et al. Pancreatic cancer organoids for determining sensitivity to bromodomain and extra-terminal inhibitors (BETi). *Front Oncol*, 2019, 9: 475
  - 78 Driehuis E, van Hoeck A, Moore K, et al. Pancreatic cancer organoids recapitulate disease and allow personalized drug screening. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2019, 116: 26580–26590
  - 79 de Witte C J, Espejo Valle-Inclan J, Hami N, et al. Patient-derived ovarian cancer organoids mimic clinical response and exhibit heterogeneous inter- and intrapatient drug responses. *Cell Rep*, 2020, 31: 107762
  - 80 Driehuis E, Spelier S, Beltrán Hernández I, et al. Patient-derived head and neck cancer organoids recapitulate EGFR expression levels of respective tissues and are responsive to EGFR-targeted photodynamic therapy. *J Clin Med*, 2019, 8: 1880
  - 81 Kim S Y, Kim S M, Lim S, et al. Modeling clinical responses to targeted therapies by patient-derived organoids of advanced lung adenocarcinoma. *Clin Cancer Res*, 2021, 27: 4397–4409
  - 82 Roerink S F, Sasaki N, Lee-Six H, et al. Intra-tumour diversification in colorectal cancer at the single-cell level. *Nature*, 2018, 556: 457–462
  - 83 Bolhaqueiro A C F, Ponsioen B, Bakker B, et al. Ongoing chromosomal instability and karyotype evolution in human colorectal cancer organoids. *Nat Genet*, 2019, 51: 824–834
  - 84 Drost J, van Boxtel R, Blokzijl F, et al. Use of CRISPR-modified human stem cell organoids to study the origin of mutational signatures in cancer. *Science*, 2017, 358: 234–238
  - 85 Seino T, Kawasaki S, Shimokawa M, et al. Human pancreatic tumor organoids reveal loss of stem cell niche factor dependence during disease progression. *Cell Stem Cell*, 2018, 22: 454–467.e6
  - 86 Öhlund D, Handly-Santana A, Biffi G, et al. Distinct populations of inflammatory fibroblasts and myofibroblasts in pancreatic cancer. *J Exp Med*, 2017, 214: 579–596
  - 87 Liu J, Li P, Wang L, et al. Cancer-associated fibroblasts provide a stromal niche for liver cancer organoids that confers trophic effects and therapy resistance. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol*, 2021, 11: 407–431
  - 88 Dijkstra K K, Cattaneo C M, Weeber F, et al. Generation of tumor-reactive T cells by co-culture of peripheral blood lymphocytes and tumor organoids. *Cell*, 2018, 174: 1586–1598.e12
  - 89 Neal J T, Li X, Zhu J, et al. Organoid modeling of the tumor immune microenvironment. *Cell*, 2018, 175: 1972–1988.e16
  - 90 Junttila M R, de Sauvage F J. Influence of tumour micro-environment heterogeneity on therapeutic response. *Nature*, 2013, 501: 346–354
  - 91 Williamson I A, Arnold J W, Samsa L A, et al. A high-throughput organoid microinjection platform to study gastrointestinal microbiota and luminal physiology. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol*, 2018, 6: 301–319
  - 92 Sasaki N, Miyamoto K, Maslowski K M, et al. Development of a scalable coculture system for gut anaerobes and human colon epithelium. *Gastroenterology*, 2020, 159: 388–390.e5
  - 93 Wilke G, Funkhouser-Jones L J, Wang Y, et al. A stem-cell-derived platform enables complete cryptosporidium development *in vitro* and genetic tractability. *Cell Host Microbe*, 2019, 26: 123–134.e8
  - 94 Hui K P Y, Ching R H H, Chan S K H, et al. Tropism, replication competence, and innate immune responses of influenza virus: An analysis of human airway organoids and *ex-vivo* bronchus cultures. *Lancet Respir Med*, 2018, 6: 846–854
  - 95 Lamers M M, Beumer J, van der Vaart J, et al. SARS-CoV-2 productively infects human gut enterocytes. *Science*, 2020, 369: 50–54
  - 96 Salahudeen A A, Choi S S, Rustagi A, et al. Progenitor identification and SARS-CoV-2 infection in human distal lung organoids. *Nature*, 2020, 588: 670–675
  - 97 Pauli C, Hopkins B D, Prandi D, et al. Personalized *in vitro* and *in vivo* cancer models to guide precision medicine. *Cancer Discov*, 2017, 7: 462–477
  - 98 Granat L M, Kambhampati O, Klosek S, et al. The promises and challenges of patient-derived tumor organoids in drug development and precision oncology. *Anim Model Exp Med*, 2019, 2: 150–161
  - 99 Karakasheva T A, Kijima T, Shimonosono M, et al. Generation and characterization of patient-derived head and neck, oral, and esophageal cancer organoids. *Curr Protoc Stem Cell Biol*, 2020, 53: e109
  - 100 Kijima T, Nakagawa H, Shimonosono M, et al. Three-dimensional organoids reveal therapy resistance of esophageal and oropharyngeal

- squamous cell carcinoma cells. [Cell Mol Gastroenterol Hepatol](#), 2019, 7: 73–91
- 101 Ebbing E A, van der Zalm A P, Steins A, et al. Stromal-derived interleukin 6 drives epithelial-to-mesenchymal transition and therapy resistance in esophageal adenocarcinoma. [Proc Natl Acad Sci USA](#), 2019, 116: 2237–2242
- 102 Kolahi K S, Nakano M, Kuo C J. Organoids as oracles for precision medicine in rectal cancer. [Cell Stem Cell](#), 2020, 26: 4–6
- 103 Janakiraman H, Zhu Y, Becker S A, et al. Modeling rectal cancer to advance neoadjuvant precision therapy. [Int J Cancer](#), 2020, 147: 1405–1418
- 104 Ooft S N, Weeber F, Dijkstra K K, et al. Patient-derived organoids can predict response to chemotherapy in metastatic colorectal cancer patients. [Sci Transl Med](#), 2019, 11: eaay2574
- 105 Ubink I, Bolhaqueiro A C F, Elias S G, et al. Organoids from colorectal peritoneal metastases as a platform for improving hyperthermic intraperitoneal chemotherapy. [Br J Surg](#), 2019, 106: 1404–1414
- 106 Rosenberg S A, Restifo N P. Adoptive cell transfer as personalized immunotherapy for human cancer. [Science](#), 2015, 348: 62–68
- 107 Cattaneo C M, Dijkstra K K, Fanchi L F, et al. Tumor organoid-T-cell coculture systems. [Nat Protoc](#), 2020, 15: 15–39
- 108 Scognamiglio G, De Chiara A, Parafioriti A, et al. Patient-derived organoids as a potential model to predict response to PD-1/PD-L1 checkpoint inhibitors. [Br J Cancer](#), 2019, 121: 979–982
- 109 Schnalzger T E, de Groot M H, Zhang C, et al. 3D model for CAR-mediated cytotoxicity using patient-derived colorectal cancer organoids. [EMBO J](#), 2019, 38: e100928
- 110 Czerniecki S M, Cruz N M, Harder J L, et al. High-throughput screening enhances kidney organoid differentiation from human pluripotent stem cells and enables automated multidimensional phenotyping. [Cell Stem Cell](#), 2018, 22: 929–940.e4
- 111 Phan N, Hong J J, Tofig B, et al. A simple high-throughput approach identifies actionable drug sensitivities in patient-derived tumor organoids. [Commun Biol](#), 2019, 2: 78
- 112 Hu Y, Sui X, Song F, et al. Lung cancer organoids analyzed on microwell arrays predict drug responses of patients within a week. [Nat Commun](#), 2021, 12: 2581
- 113 Sailon A M, Allori A C, Davidson E H, et al. A novel flow-perfusion bioreactor supports 3D dynamic cell culture. [J Biomed Biotechnol](#), 2009, 2009: 1–7
- 114 Park S E, Georgescu A, Huh D. Organoids-on-a-chip. [Science](#), 2019, 364: 960–965
- 115 Deng J, Wei W, Chen Z, et al. Engineered liver-on-a-chip platform to mimic liver functions and its biomedical applications: a review. [Micromachines](#), 2019, 10: 676
- 116 Li Y, Liu Y, Liu B, et al. A growth factor-free culture system underscores the coordination between Wnt and BMP signaling in Lgr5<sup>+</sup> intestinal stem cell maintenance. [Cell Discov](#), 2018, 4: 49
- 117 Yin X, Farin H F, van Es J H, et al. Niche-independent high-purity cultures of Lgr5<sup>+</sup> intestinal stem cells and their progeny. [Nat Methods](#), 2014, 11: 106–112
- 118 Drost J, van Jaarsveld R H, Ponsioen B, et al. Sequential cancer mutations in cultured human intestinal stem cells. [Nature](#), 2015, 521: 43–47
- 119 Muzny D M, Bainbridge M N, Chang K, et al. Comprehensive molecular characterization of human colon and rectal cancer. [Nature](#), 2012, 487: 330–337
- 120 Sato T, Stange D E, Ferrante M, et al. Long-term expansion of epithelial organoids from human colon, adenoma, adenocarcinoma, and barrett's epithelium. [Gastroenterology](#), 2011, 141: 1762–1772
- 121 Fujii M, Shimokawa M, Date S, et al. A colorectal tumor organoid library demonstrates progressive loss of niche factor requirements during tumorigenesis. [Cell Stem Cell](#), 2016, 18: 827–838
- 122 Sakamoto N, Feng Y, Stolfi C, et al. BRAFV600E cooperates with CDX2 inactivation to promote serrated colorectal tumorigenesis. [eLife](#), 2017, 6: e20331
- 123 Bredenoord A L, Clevers H, Knoblich J A. Human tissues in a dish: The research and ethical implications of organoid technology. [Science](#), 2017, 355: eaaf9414
- 124 Boers S N, van Delden J J M, Bredenoord A L. Broad consent is consent for governance. [Am J Bioeth](#), 2015, 15: 53–55

## The application and research advances of organoids in clinical medicine

MO ShaoBo<sup>1</sup>, GUAN RuoYu<sup>2</sup>, ZHANG Long<sup>3</sup>, CAI SanJun<sup>1,3</sup>, PENG JunJie<sup>1</sup> & HUA GuoQiang<sup>2,3</sup>

*1 Department of Colorectal Surgery, Fudan University Shanghai Cancer Center, Shanghai 200032, China;*

*2 Institute of Radiation Medicine, Fudan University, Shanghai 200032, China;*

*3 Cancer institute, Fudan University Shanghai Cancer Center, Shanghai 200032, China*

Three-dimensional cultured organoids recapitulate histopathologic and molecular characteristics of the primary tissues. The rise and development of organoids provide an important platform for clinical medicine research. Patient-derived organoids could be used as models to help clinicians to better understand the pathophysiology of related diseases and formulate corresponding treatment strategies; Organoids derived from tumors could be utilized as a drug screening system for precision medicine, helping clinicians to select the most appropriate regimen for cancer patients and to improve the clinical outcome. This review would summarize the application and research advances of organoids in clinical medicine.

**organoid, clinical medicine, application, research advances**

**doi:** [10.1360/SSV-2021-0315](https://doi.org/10.1360/SSV-2021-0315)