

彭雅萱, 段盛林, 杨宗玲, 等. 肠类器官应用于营养素吸收的研究进展 [J]. 食品工业科技, 2022, 43(24): 405-411. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2021100295

PENG Yaxuan, DUAN Shenglin, YANG Zongling, et al. Application Research Progress of Intestinal Organoids in Nutrient Absorption[J]. Science and Technology of Food Industry, 2022, 43(24): 405-411. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2021100295

· 专题综述 ·

# 肠类器官应用于营养素吸收的研究进展

彭雅萱<sup>1</sup>, 段盛林<sup>1</sup>, 杨宗玲<sup>1</sup>, 刘义凤<sup>1</sup>, 李海枝<sup>1</sup>, 潘 聪<sup>1</sup>, 于有强<sup>1</sup>, 夏 凯<sup>1\*</sup>

(中国食品发酵工业研究院有限公司, 功能主食创制与慢病营养干预北京市重点实验室, 北京 100015)

**摘要:** 肠道不仅是营养物质消化吸收的主要部位, 也是重要的免疫器官和内分泌器官。营养物质在肠道内的消化吸收状况是决定其高效利用的重要因素。构建适宜的体外肠道模型对明确营养物质的有效吸收部位、吸收效率及机制具有重要意义。类器官由于可高度模拟目标组织或器官的遗传特性和表现特征被广泛应用于各个领域。本文综述了近年来肠类器官在营养物质消化吸收方面的研究进展, 以期能为肠类器官在营养物质的消化吸收中的广泛应用提供参考。

**关键词:** 肠道, 肠类器官, 营养素, 吸收, 肠干细胞

中图分类号: TS201.4

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2022)24-0405-07

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2021100295



本文网刊:

## Application Research Progress of Intestinal Organoids in Nutrient Absorption

PENG Yaxuan<sup>1</sup>, DUAN Shenglin<sup>1</sup>, YANG Zongling<sup>1</sup>, LIU Yifeng<sup>1</sup>, LI Haizhi<sup>1</sup>, PAN Cong<sup>1</sup>, YU Youqiang<sup>1</sup>, XIA Kai<sup>1\*</sup>

(China National Research Institute of Food Fermentation Industries Co., Ltd., Functional Staple Food Creation and Nutrition Intervention for Chronic Diseases in Beijing Key Laboratory, Beijing 100015, China)

**Abstract:** The intestinal tract is not only the main part of nutrient digestion and absorption, but also an important immune and endocrine organ. The digestion and absorption of nutrients in the intestine is a crucial factor to achieve their efficient utilization. Constructing an appropriate *in vitro* intestinal model is of great significance to clarify the effective absorption site, absorption efficiency, and mechanism of nutrients. Organoids are widely used in various fields because they can highly simulate the genetic and apparent characteristics of target tissues or organs. This paper reviews the recent application research progress of intestinal organoids in nutrient digestion and absorption, with a view to providing a reference for the wide application of intestinal organoids in nutrient digestion and absorption.

**Key words:** intestinal tract; organoids; nutrients; absorption; intestinal stem cells

类器官技术是指采用三维(three-dimensions, 3-D)培养条件将干细胞分裂分化形成在空间、结构上与来源器官组织、基因、结构和功能相似的微器官或微组织的过程, 所形成的微器官或微组织称为类器官<sup>[1-2]</sup>。近年来, 类器官技术由于其形成的组织器官在细胞生长状态、生存空间及功能方面更接近体内细胞而受到诸多领域学者的关注。2013年, 类器官

技术被《Science》杂志列入“十大突破”技术; 2017年被《Nature》杂志评选为年度最佳生物技术; 2019年, 《Nature》、《Cell》及《Science》杂志分别发表了类器官特刊, 肯定了类器官技术在各领域的重要地位。肠类器官作为第一种从干细胞中培养而来的类器官在肠道疾病、药物筛选与评价、个体遗传与评价方面具有重要的应用前景, 其主要优点在于结构和功能与活

收稿日期: 2021-10-28

基金项目: 河北省重点研发计划项目(21327118D)。

作者简介: 彭雅萱(1996-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 功能食品评价, E-mail: demmy96@163.com。

\* 通信作者: 夏凯(1985-), 男, 博士, 高级工程师, 研究方向: 功能食品与临床营养, E-mail: xiakaiphd@126.com。

体极其相似,可进行监控和改造<sup>[3-4]</sup>。肠类器官技术首先在生物医学领域迅速发展,目前,也逐渐应用到营养学领域。

在营养学研究上,体外模型可定性、定量地研究营养物质在肠道的吸收动力学、吸收机制、有效吸收部位及影响吸收的因素等,为某种营养物质的高效利用提供更科学的理论依据。目前国内外已广泛将动物模型应用于营养物质的吸收代谢研究<sup>[5-7]</sup>,虽然动物模型可在一定程度反映人体营养物质的吸收代谢情况,但由于动物模型模拟肠道与人体肠道各部分因组织结构和生理功能存在差异性,其结果不一定适用于人体。肠道类器官的出现为这一问题的解决提供了一个全新的途径。本文概述了肠类器官在重要营养素如碳水化合物、蛋白质、脂类、维生素、矿物质等的消化吸收方面的研究现状,可为肠类器官在食品营养吸收、药物代谢及食品摄入安全评价等方面的研究提供参考。

## 1 肠类器官概述

肠类器官是指通过体外培养肠干细胞使之逐渐增殖、分化出包括杯状细胞和潘氏细胞在内的几乎所有类型,形成了具有不同肠细胞之间生物通信的结构及其功能的迷你肠器官或肠组织<sup>[8-9]</sup>,可重现其在原生组织的重要特征,包括与原生肠上皮相似、由隐窝和绒毛组成的高度折叠的上皮结构<sup>[10]</sup>。由此可知,肠类器官具有三个基本特点。首先,它包含肠道器官的多个细胞类型;第二,它能表现出肠道器官的功能;第三,肠类器官细胞的组织方式与肠道器官本身相似,这也意味着肠道器官在发展过程中建立其特有组织的方式是相似的。在此基础上,利用肠类器官研究不同营养素在肠道的消化吸收等营养特性将会是一个绝佳的选择。

### 1.1 肠类器官简史

Rheinwald等<sup>[11]</sup>于1975年首次提出了人类细胞的培养方法,并于两年后成功利用人类干细胞进行了3-D组织结构重组。2009年Sato等<sup>[3]</sup>成功将源自富含亮氨酸重复序列的阳性G蛋白偶联受体5(leucine-rich repeat-containing G-protein coupled receptor 5+, Lgr5+)肠道干细胞(Intestinal stem cells, ISC)培养形成隐窝绒毛结构,并能够分化成所有肠细胞类型,取得了突破性进展。2010年,Cao等<sup>[12]</sup>采用了两步分化程序,使胚胎干细胞(embryonic stem cells, ESCs)分化形成内胚层,并发现来源于ESCs的内胚层可以分化为肠类器官,并可以用来移植修复体内受损的肠组织。2011年,Spence等<sup>[13]</sup>首次证明人类诱导多能干细胞(human pluripotent stem cells, hPSCs)可以在体外有效地分化成与胎儿肠非常相似的结构。

### 1.2 肠类器官的分类

肠类器官可根据来源可分为成体肠干细胞、胚胎干细胞和诱导多能干细胞。肠干细胞分布于肠道隐窝底部;胚胎干细胞是早期胚胎或原始性腺中分离

出来的一类细胞<sup>[8]</sup>;而诱导多能干细胞是体细胞通过细胞重编程(Cell Reprogramming)恢复到全能性状态而形成的干细胞<sup>[14]</sup>。这些干细胞可通过培养形成隐窝-绒毛结构,并能进行长时间的自我更新和分化。根据肠类器官初始培养体系组分的不同,又可以将其分为原生上皮细胞类器官、上皮间叶组织类器官和多能干细胞类器官<sup>[8]</sup>。

### 1.3 肠类器官的组成

肠干细胞是可以再生整个隐窝绒毛结构的细胞,它具备长期自我更新和多能分化两种能力,因此肠干细胞既能维持其数量保持在一定的范围又能分化为一类不同种类的肠细胞。肠干细胞可分化为六种主要的细胞类型。吸收性细胞占有所有上皮细胞的80%,主要职责是在酶的作用下进行消化和吸收<sup>[15]</sup>。杯状细胞同时存在于肠隐窝和绒毛中,占4%~12%,主要作用是分泌粘蛋白从而形成两层黏膜,其中疏松的外层为共生细菌提供定殖条件,以维持肠道菌群的平衡,而致密的内层牢固地附着在上皮细胞上,防止微生物对上皮细胞造成损伤;此外,杯状细胞还会产生一些修复因子来促进损伤后的修复过程<sup>[16-17]</sup>。与其他细胞相比,潘氏细胞是寿命较长的(2~3个月)分化细胞,占全部肠上皮细胞的3%~8%,其向下迁移并定居在隐窝底部,主要作用是产生抗菌肽对隐窝腔进行消毒<sup>[17]</sup>。肠内分泌细胞分布于隐窝-绒毛轴结构,通过释放多种激素协调新陈代谢、胰岛素分泌、食物摄入和营养同化,但其数量较少,不足1%<sup>[15]</sup>。M细胞位于肠隐窝,其主要作用是通过管腔中抗原的转胞吞作用调节免疫反应,仅占上皮细胞不足1%,同样含量较少的还有化学感应簇细胞(0.4%~2%)<sup>[16-17]</sup>。

### 1.4 肠类器官的培养

肠类器官是干细胞在体外3D培养条件下,再现了同类细胞以黏附的方式分类聚集(cell sorting)和空间特异性的细胞谱系定型(spatially restricted lineage commitment),突破了细胞间单纯的物理接触联系,得到的具有更加紧密的细胞间生物通信和对应功能的迷你肠器官或肠组织<sup>[9]</sup>。其3D培养体系是建立在悬浮培养基础上的,通过使用无支架技术或支架避免细胞直接与塑料培养器皿直接接触。无支架技术是细胞通过重力和表面张力在特定培养基的液滴中培养<sup>[18]</sup>,但目前已有的研究中培养类器官大多都使用支架。支架是类似天然细胞外基质(extracellular matrix, ECM)的天然或合成水凝胶。ECM<sup>[19-21]</sup>是由水、蛋白质和多糖组成的具有三维结构的柔软且可移动的基质复合体,它不断与周围细胞相互作用,不仅能维持正常细胞的结构和功能,还能促进细胞分化,在培养类器官过程中最常用的一种支架是Matrigel<sup>[9,18]</sup>,它是由小鼠肉瘤细胞分泌的一种异质性的胶质蛋白混合物,其主要包含粘附蛋白,如胶原蛋白、内凝血素、层粘连蛋白和硫酸肝素蛋白聚糖,

类似于细胞外环境,为干细胞的黏附、生长和分化提供结构支持和生物化学信号。此外,ISCs 来源的肠类器官由于缺乏基质细胞,其形成和发展需要依赖在培养基中加入一些关键成分,包括 Wnt-3A、表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)、Noggin 和 R-spondin1,统称为 WENR 培养基<sup>[22]</sup>,这些成分参与多种信号通路以调控肠干细胞的自我更新和分化,使肠干细胞能向特定细胞类型分化的同时又能维持一定的干细胞数量,从而形成肠类器官。而 PSCs 来源的肠类器官,需要先经过激活素<sup>[23-24]</sup>处理,使 PSCs 分化为内胚层,经内胚层诱导后,PSCs 将分化成中肠和后肠组织,并从附着在组织培养皿上的单层上皮细胞中萌发,再在含有肠生长因子的基质中进一步培养,通过增殖和扩展形成多种主要肠细胞类型。不论是哪种干细胞形成的肠类器官均能用于后续不同营养素的营养特性研究。

## 2 肠类器官对各类营养素消化吸收的研究进展

人体食物的消化吸收是一个极其复杂的过程,机体生长所需的营养素通过食物摄入后转化而来。目前越来越多的研究者通过体内实验和动物模型研究食物的消化吸收特性,但其存在成本昂贵、操作复杂且不可逆等缺点,相比之下,体外模型具有简便易行、可循环利用等优点。目前被广泛应用于食物营养素吸收特性的细胞主要有 Caco-2 细胞<sup>[25]</sup>、T84 细胞<sup>[26]</sup>和 HT-29 细胞<sup>[27]</sup>,这些细胞纯度高可长期培养,但肠道组织形态生理的相关性和肠道分化功能不能被充分体现,且在连续传代培养过程中易突变。

随着类器官技术的不断发展,肠类器官因包含多种细胞类型,具有肠器官的功能成为营养研究模式的热点,越来越多的研究者开始尝试将肠类器官模型应用于不同物质的营养特性研究。

### 2.1 碳水化合物

碳水化合物是细胞的主要组成成分及生命活动的供能物质。碳水化合物的消化吸收主要在小肠进行,食物中的碳水化合物在消化过程中,先在胰淀粉酶的作用下分解为双糖,再通过小肠刷状缘分泌的双糖酶进一步分解为单糖,然后通过特殊的转运蛋白吸收进入血液运输至身体各组织细胞最后被利用。单糖可通过被动或主动运输方式被肠细胞吸收并从肠细胞中排出。人类糖尿病等重大疾病与糖的摄入量高度相关,研究糖的体外模型对食品及医药行业具有重要意义,如通过体外模型分析不同生理条件下人体肠道对葡萄糖的吸收进而了解其营养需要量及能量的供需情况。

Hasan 等<sup>[28]</sup>利用类器官培养技术,以健康瘦人和病态肥胖患者的肠干细胞进行培养,证明了肥胖人群饮食中葡萄糖的吸收和糖异生的增加是由于肠道碳水化合物代谢相关重要载体与限速酶,如钠葡萄糖共转运载体(Sodium Glucose Cotransporter-1, SGLT1)、

葡萄糖转运蛋白 2(Glucose Transporter 2, GLUT2)和葡萄糖转运蛋白 5(Glucose Transporter, GLUT5),以及糖异生酶,如磷酸烯醇丙酮酸羧化激酶(Phosphoenolpyruvate carboxykinase, PEPCK1)和葡萄糖-6-磷酸酶(glucose-6-phosphatase, G6P)的表达明显高于低葡萄糖吸收和缺乏糖异生酶的瘦人肠道。除此之外,在相同浓度葡萄糖的处理条件下,高 BMI/高葡萄糖吸收率的肠道细胞能够吸收更多的葡萄糖,解释了一些病态性的肥胖不能通过改变饮食得到有效控制的原因。Zietek 等<sup>[29]</sup>利用小鼠小肠类器官模型同时分析,分析了胰高糖素样肽-1(glucagon-like peptide-1, GLP-1)具有葡萄糖浓度剂量依赖性,证明小鼠小肠类器官可作为研究肠道营养物质吸收、药物转运和肠细胞代谢的体外模型。最近的一项研究中,Filippello 等<sup>[30]</sup>利用肠道类器官分析高葡萄糖浓度对肠内分泌细胞分化的影响,结果表明,高葡萄糖浓度会抑制肠内分泌细胞中相关标志物的表达,减少肠促胰岛素的分泌,该研究为干预治疗 II 型糖尿病提供了相关参考。

鉴于钠-葡萄糖共转运蛋白家族和促进性葡萄糖转运蛋白家族的多种转运蛋白具有部分未知的特异性,肠道糖吸收的机制尚不完全清楚,类器官技术的出现或许可推动该领域的发展。

### 2.2 蛋白质

摄入的蛋白质首先在胃内部分被胃蛋白酶水解为氨基酸、寡肽以及少量的多肽,然后到达小肠后被胰蛋白酶和小肠粘膜细胞刷状缘中的氨基肽酶、寡肽酶共同作用分解为氨基酸及短肽。

Kar 等<sup>[31]</sup>利用肠类器官单层肠道上皮细胞结合转录组学的方法研究不同膳食来源的蛋白质对上皮细胞功能的影响。结果表明,不同膳食来源的蛋白质在上皮细胞中具有独特的生物表达过程。这项研究证明了肠道类器官模型可用于评估膳食成分与肠道上皮之间复杂的相互作用关系。Wang 等<sup>[32]</sup>建立了一种鸡肠道类器官培养方法,并利用该模型探讨蛋氨酸及其羟基衍生物(methionine hydroxy analogue, MHA)缺乏对肠道类器官发育的影响。结果表明,MHA 缺乏会抑制类器官的形成、分化,该研究证明了利用肠道类器官模型可以直接反映某些营养素或化学物质对肠道发育的影响。彭丽媛<sup>[33]</sup>通过建立炎症损伤肠类器官模型,探究了牛乳铁蛋白肽经过消化后得到的短肽对炎症损伤肠道细胞的保护作用,发现消化后得到的短肽可以通过增强紧密连接蛋白的表达来保护肠道健康,抑制炎症因子的释放并缓解炎症类器官的异常增殖分化现象,该研究证明利用肠类器官可以探究不同蛋白质、肽对肠道细胞的不同影响。

蛋白质、多肽的种类繁多,结构复杂,其在小肠部位的吸收方式,与小肠细胞的相互作用以及其中蕴含的机制机理许多都还处于未知或不完全清晰的状态,肠类器官模型将会是引导研究者们解开疑问的又一绝佳手段。

## 2.3 脂肪

脂肪的消化主要在小肠部位,在胆汁的作用下被乳化为微粒,再通过脂肪酶的作用被分解为游离脂肪酸和甘油单酯。通过饮食中脂肪的吸收,以及肠促胰岛素激素和免疫介质的分泌,肠道在调节全身脂质稳态方面起着至关重要的作用。

Jung 等<sup>[34]</sup>通过肠类器官模型,证明了短链脂肪酸(乙酸、丁酸、丙酸)可以促进肠道类器官的发育,且短链脂肪酸对促进肠上皮细胞的增殖和更新具有重要作用。在 Semir 等<sup>[35]</sup>的研究中,小鼠肠道类器官暴露于棕榈酸中,有利于肠类器官的增殖分化。这两项研究均表明可通过肠类器官的增殖和生长状态研究不同脂肪酸对肠道的影响。肠道可合成一种特殊脂蛋白,即乳糜微粒,含有膳食甘油三酯(triacylglycerol, TAG)和胆固醇,以及结构和功能性载脂蛋白,是代谢疾病的关键调节因子。Jattan 等<sup>[36]</sup>利用小鼠肠类器官模型证明了饮食脂肪吸收的肠道机制,发现了肠道中载脂蛋白 C-III 的过表达导致小肠分泌更小、密度更小的乳糜微粒,减少 TAG 的分泌。Li 等<sup>[37]</sup>同样利用了肠类器官技术研究了饮食中脂质吸收和脂蛋白分泌的肠道机制。这两项研究证明了肠类器官可用于阐明心血管疾病危险因素背后的肠道机制,包括组织特异性载脂蛋白功能。

从这些研究中可以看出,随着肠类器官技术的不断发展,研究者们已经逐渐从仅探究脂肪对肠细胞增殖和分化能力的影响到不同脂肪及其衍生物的吸收机制以及对相关疾病产生影响的原理。由此说明,肠类器官技术的应用范围在不断扩大,相信在不久之后,肠类器官在脂肪吸收特性研究这一领域将得到更加普遍的应用。

## 2.4 维生素

维生素可分为脂溶性维生素和水溶性维生素,前者包括维生素 A、D 等,它们通过溶解于脂质中被人体共同吸收;后者包括维生素 C 和维生素 B 族,它们通常与食物中的蛋白质等结合,并在消化道中逐步被释放,最后在肠道被吸收。

Qi 等<sup>[38]</sup>从小鼠体内分离并培养出 4 种具有不同肠道微生物群的肠类器官,研究维生素 C 和维生素 B<sub>3</sub> 对携带不同微生物的四种肠类器官的影响。结果表明,维生素 C 浓度为 1200 μg/mL、维生素 B<sub>3</sub> 浓度为 600 μg/mL 对肠道干细胞具有敏感性,该研究为肠道类器官在制备维生素 C 和维生素 B<sub>3</sub> 口服液提供了理论依据。Yamada 等<sup>[39]</sup>利用类器官技术研究维生素 A 的活性代谢产物——全反式维甲酸对肠道类器官分化的影响。结果表明,维 A 酸可增加肠类器官中可促进肠成熟发育的药物代谢酶基因 *CYP3A4* 的表达,并降低肠上皮单层膜对异硫氰酸荧光素标记的葡聚糖的通透性,并证明了维生素 A 的活性代谢产物维 A 酸对肠上皮屏障的保护作用。Sittipo 等<sup>[40]</sup>采用肠道类器官模型研究了维生素 D<sub>3</sub>

对肠道类器官中肠上皮细胞分化和干细胞生存能力的影响。结果表明,维生素 D<sub>3</sub> 可促进肠道上皮细胞分化,诱导细胞凋亡,这也为维生素 D<sub>3</sub> 可预防直肠癌提供了依据。

目前利用肠类器官研究维生素吸收特性的相关研究较少,但已有的研究不仅深入到吸收相关的机制机理研究,还与肠道微生物相结合,进一步优化了肠类器官模型,为维生素在肠道吸收特性等方面的进一步研究奠定了基础。

## 2.5 矿物质

矿物质在食品中以游离和各种结合态的形式存在,游离形式的矿物质可被直接吸收,而以结合态形式存在的矿物质在消化道中各种酶的作用下逐渐被释放并吸收。

Seiwert 等<sup>[41]</sup>评估了血红素铁在小鼠肠道类器官中的遗传毒性和细胞毒性作用,揭示了血红素铁可促进一些活性氧的形成,并诱导 DNA 损伤,降低细胞活性。威尔逊病是由 *ATP7B* 基因突变引起的铜失衡疾病, Pierson 等<sup>[42]</sup>表征了 *ATP7B* 在小鼠肠类器官和组织中的作用,通过免疫组织化学和 X 射线荧光用于表征组织中 *ATP7B* 和 Cu 的分布,结果表明, *ATP7B* 沿十二指肠隐窝-绒毛轴维持 Cu 梯度,并缓冲肠上皮细胞质中的 Cu 含量。该研究利用肠道类器官模型揭示了铜代谢紊乱引发威尔逊病的机制。

矿物质是人体必需的营养素之一,在体内无法自行产生、合成,必须由外界环境供给。适量的摄入矿物质是维持机体正常生命活动所必需的,但摄入量或不足都会不同程度的引起机体的不适,甚至引发疾病。目前,采用体外模型评估矿物质的利用和运输机制仍然存在局限性,如难以准确定量营养素当量、单一细胞模型无法满足研究设计要求等,类器官技术的出现为评价营养环境中矿物吸收代谢提供了一个易于操作的模型。

## 2.6 其他

胃肠道的肠上皮不断更新以吸收营养,并为身体提供外部保护。除了以上提到的碳水化合物、蛋白质、脂肪、矿物质以及维生素这些常见营养素外,肠道上皮还会不断暴露于其他化学物质和饮食成分包括植物活性成分、食品添加剂等中,因此研究不同成分对肠类器官的生长速率、细胞的增殖分化能力以及不同成分的吸收机制甚至对调控某些激素的影响至关重要。

2.6.1 植物活性成分 植物活性成分是指植物体内除水分、糖类、蛋白质类、脂肪类等必要物质外的一类对人或其他生物具有一定生理促进作用的物质,其中还包括一些次级代谢产物。

Cai 等<sup>[43]</sup>利用肠道类器官模型研究了不同浓度谷氨酸钠、维生素 C、绿原酸、咖啡酸、姜黄素和对羟基苯丙酸六种常见营养素对小鼠肠类器官生长速率的影响,结果表明,几种膳食成分对肠类器官

的生长无显著影响,而咖啡酸以浓度依赖的方式抑制了小鼠肠道类器官的生长,这与其他体外结果一致<sup>[44]</sup>;但谷氨酸钠的结果与以往不一致<sup>[45]</sup>;且王稣婧<sup>[46]</sup>在对绿原酸进一步的研究中利用肠类器官构建肠道受损模型,发现在一定的浓度范围内,绿原酸可增加肠类器官的存活率,显著增强其生长和分化能力,且对受损肠道具有一定保护作用,并在此基础上,进一步探究了绿原酸对受损肠道的保护机制,说明了绿原酸对保护肠道以及促进损伤修复具有重要意义。这些研究表明可以通过建立一定状态的肠类器官模型并总结其生长和状态来研究不同活性物质对肠道的影响。已有研究报道了十字花科蔬菜的高摄入量与几种胃肠道癌症的低风险之间具有显著相关性<sup>[47-48]</sup>。而食用十字花科蔬菜的潜在健康益处在于吲哚-3-甲醇(Indole-3-carbinol, I3C)等成分,最近 Park 等<sup>[49]</sup>利用小鼠小肠类器官对 I3C 进行了研究,发现经 I3C 处理的肠类器官中的杯状细胞数量减少,但潘氏细胞的数量以及隐窝和绒毛的深度和长度没有改变,并证明了 I3C 可以调节 Wnt 和 Notch 信号,说明其在调节正常细胞寿命和杯状细胞分化中发挥重要作用。这项研究表明可以通过将肠类器官的生长情况与其中不同细胞的数量变化相联系,并结合对不同信号通路的表达研究更加全面地说明活性成分对肠道的影响。原花青素(procyanidin)是低聚花青素的前体,具有较强的抗氧化作用。Zhang 等<sup>[50]</sup>利用辐照损伤的肠道类器官培养系统分析原花青素 B2 对肠干细胞活性的影响,证明了原花青素 B2 具有修复辐照诱导损伤肠道再生的功能;Casanova 等<sup>[51]</sup>利用肠道类器官研究葡萄籽原花青素提取物及其两种单体(儿茶素、没食子酸)对肠道细胞的分化及激素释放的影响,结果表明,葡萄籽原花青素提取物能促进多种肠细胞类型分化,抑制细胞增殖,且能够通过调节早期转录因子的基因表达增强 L-细胞分化从而增加厌食激素、胰高血糖素样肽-1 和肽 YY 的产生。该研究结果对抑制食欲和改善血糖有重要作用,为肥胖人群和 II 型糖尿病患者的干预治疗提供一种潜在的策略。

相对其他营养素,利用肠类器官研究植物活性成分对肠道的影响及其机制的相关文献更多,应用范围较广,并与相关疾病的干预治疗相联系。由此可看出,肠类器官技术已较为广泛应用在研究植物活性成分的吸收、相关激素的调控等方面。

**2.6.2 食品添加剂** 为了改善食品的感官特性、加工特性和保藏特性,往往会在食品中添加一些人工合成或天然物质来达到目的,包括一些着色剂、防腐剂等。

孔秀楠<sup>[52]</sup>通过建立肠道体外类器官培养模型,并结合葡聚糖硫酸钠(dextran sulphate sodium, DSS)炎症损伤模型,研究不同来源的食用黄色素对肠类器官生长、细胞增殖分化及肠道炎症反应的影响与机

制,结果表明姜黄素、叶黄素、羟基红花黄 A、柠檬黄和喹啉黄在低浓度条件下对肠类器官的生长无显著影响;而日落黄会抑制肠道细胞增殖,影响肠道细胞分化,破坏肠道上皮稳态,扰乱激素分泌,且长期大量食用日落黄可能会增加患肠道炎症的风险。Kong 等<sup>[53]</sup>利用小肠类器官模型研究日落黄色素对小肠上皮细胞的影响进而对其进行毒理学评价。结果表明,日落黄作为一种食品色素会干扰小肠上皮的内环境稳定,长期持续服用日落黄可能增加肠道炎症的风险。张丽颖<sup>[54]</sup>运用肠类器官发现山梨酸钾和糖精钠单独毒性作用及两者之间产生的协同毒性作用对诱导肠道细胞凋亡;除此之外,亚硫酸钠和甜蜜素之间表现为拮抗毒性作用;证明了肠道类器官是一种用于评价食品添加剂毒性及其相互作用的理想模型。

目前肠类器官在食品添加剂方面的应用还限于作为一种营养评价手段,仅用于研究添加剂对肠类器官的生长影响,往后的研究或许可以进一步探究其中的机制机理,也可进一步引入肠道微生物,或与对其他组织细胞的作用相联系等,扩大其在该领域的应用范围、完善技术手段。

### 3 总结与展望

近年来,肠道类器官技术由于保留了原组织的结构、细胞间的相互作用和分化能力,取得了重大进展。利用肠类器官技术或将其与其他技术相结合研究不同营养素对肠道功能的影响,不仅可帮助人们规划健康的饮食,也可以对一些疾病的预防、改善和治疗提出建议,同时对新型功能性食品甚至药物的研制、筛选有重要意义。

肠类器官培养技术在 10 年左右的时间得到了快速发展,但肠类器官目前在食品营养学领域的应用仍处在初期阶段,如何将肠类器官更好地应用于各类营养素的研究仍面临着各方面的风险和挑战。如来源于成体肠干细胞的肠类器官缺乏周围的基质细胞,无法完全构建肠道微环境;ESCs 的获取涉及到伦理问题,存在一定争议;不同来源和不同培养方法得到的 PSCs 之间也存在较大差异,且 ESCs 与 PSCs 在分化和致瘤潜能上也存在着根本的差异;大多数类器官悬浮在基质凝胶中,在充满生长因子的培养基中培养,与 2D 细胞系培养相比,Matrigel 基质胶的存在会影响功能以及生化分析,并复杂化细胞的获取和传代,而围绕类器官的富集生长因子可能损害组织的自然形态梯度;真实肠道环境中的重要组成部分肠道菌群在体内也发挥着重要作用,如何将更加完整的肠道菌群与肠类器官共同进行长期培养仍需要技术上的不断完善;目前大部分食品营养学领域的研究者只将肠类器官作为一种营养评价的技术手段,部分学者已开始利用其研究营养吸收的机制机理,以及引入肠道微生物进行共培养,如何更加充分地利用肠类器官这一新兴技术还需要研究者们不断探索创新。

类器官技术还存在一定风险和挑战,但其在较

短时间内已得到了迅速的发展,相信在不久的将来,这一方法的真正潜力将会被不断发掘出来,为人类的营养健康做出更大贡献。

### 参考文献

- [1] 张秀梅, 翟运开, 赵杰, 等. 类器官模型国内外数据库近10年文献研究热点分析[J]. *中国组织工程研究*, 2021, 25(8): 107-113. [ZHAI Y K, ZHAO J, ZHAO M. Research hotspots of organoid models in recent 10 years: A search in domestic and foreign databases[J]. *Journal of Clinical Rehabilitative Tissue Engineering Research*, 2021, 25(8): 107-113.]
- [2] RODRIGUES D B, FAILLA M L. Intestinal cell models for investigating the uptake, metabolism and absorption of dietary nutrients and bioactive compounds[J]. *Current Opinion in Food Science*, 2021, 41(4): 169-179.
- [3] SATO T, VRIES R G, SNIPPET H J, et al. Single Lgr5 stem cells build crypt-villus structures *in vitro* without a mesenchymal niche[J]. *Nature*, 2009, 459(7244): 262-265.
- [4] KWON O, JUNG K B, LEE K R, et al. The development of a functional human small intestinal epithelium model for drug absorption[J]. *Science Advances*, 2021, 7(23): eabh1586.
- [5] TAKAHASHI A, SAKAGUCHI H, HIGUCHI O, et al. Intestinal absorption of black chokeberry cyanidin 3-glycosides is promoted by capsaicin and capsiate in a rat ligated small intestinal loop model[J]. *Food Chemistry*, 2019, 277: 323-326.
- [6] STEINGOETTER A, ARNOLD M, SCHEUBLE N, et al. A rat model of human lipid emulsion digestion[J]. *Frontiers in Nutrition*, 2019, 6: 170.
- [7] FANG M, XIONG S, YIN T, et al. *In vivo* digestion and absorption characteristics of surimi gels with different degrees of cross-linking induced by transglutaminase (TGase)[J]. *Food Hydrocolloids*, 2021, 121: 1-8.
- [8] 高云, 赵九龙, 高俊, 等. 肠类器官的研究与应用[J]. *国际消化病杂志*, 2017, 37(2): 87-91. [GAO Y, ZHAO J L, GAO J, et al. Research and application of intestinal organoids[J]. *International Journal of Digestive Diseases*, 2017, 37(2): 87-91.]
- [9] CORRÒ C, NOVELLASDEMUNT L, LI V. A brief history of organoids[J]. *AJP Cell Physiology*, 2020, 319(1): C151-C165.
- [10] 王雨佳, 沈洪. 肠道类器官的培育、功能、在肠疾病模型和药物测试中的应用研究进展[J]. *山东医药*, 2019, 59(15): 84-87. [WANG Y J, SHEN H. Advances in the cultivation, function and application of intestinal organoids in intestinal disease models and drug testing[J]. *Shandong Medical Journal*, 2019, 59(15): 84-87.]
- [11] RHEINWALD J G, GREEN H. Formation of a keratinizing epithelium in culture by a cloned cell line derived from a teratoma[J]. *Cell*, 1975, 6(3): 317-330.
- [12] CAO L, GIBSON J D, MIYAMOTO S, et al. Intestinal lineage commitment of embryonic stem cells[J]. *Differentiation*, 2011, 81(1): 1-10.
- [13] SPENCE J R, MAYHEW C N, RANKIN S A, et al. Directed differentiation of human pluripotent stem cells into intestinal tissue *in vitro*[J]. *Nature*, 2011, 470(7332): 105-109.
- [14] SR A, NMB B, HMS C, et al. Intestinal organoids: A new paradigm for engineering intestinal epithelium *in vitro*[J]. *Biomaterials*, 2019, 194: 195-214.
- [15] BOONEKAMP K E, DAYTON T L, HANS C. Intestinal organoids as tools for enriching and studying specific and rare cell types: Advances and future directions[J]. *Journal of Molecular Cell Biology*, 2020(8): 8.
- [16] ZHAO Q, GUAN J, WANG X. Intestinal stem cells and intestinal organoids[J]. *Journal of Genetics and Genomics*, 2020, 47(6): 289-299.
- [17] GRIBBLE F M, REIMANN F. Function and mechanisms of enteroendocrine cells and gut hormones in metabolism[J]. *Nature Reviews Endocrinology*, 2019, 15: 226-237.
- [18] KIM G A, SPENCE J R, TAKAYAMA S. Bioengineering for intestinal organoid cultures[J]. *Current Opinion in Biotechnology*, 2017, 47: 51-58.
- [19] HAN S, KIM J, LI R, et al. Hydrophobic patterning-based 3D microfluidic cell culture assay[J]. *Advanced Healthcare Materials*, 2018; e1800122.
- [20] LIU H, WANG Y, CUI K, et al. Advances in hydrogels in organoids and organs-on-a-chip[J]. *Advanced Materials*, 2019, 31(50): 1902042.
- [21] PARK S E, GEORGESCU A, OH J M, et al. Polydopamine-based interfacial engineering of extracellular matrix hydrogels for construction and long-term maintenance of living three-dimensional tissues[J]. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2019, 11(27): 23919-23925.
- [22] DATE S, SATO T. Mini-gut organoids: Reconstitution of stem cell niche[J]. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, 2015, 31(1): 269-289.
- [23] CAREY L W, MAXIME M MAHE, JORGE M, et al. An *in vivo* model of human small intestine using pluripotent stem cells[J]. *Nature Medicine*, 2014, 20(11): 1310-1314.
- [24] MCCracken K W, HOWELL J C, WELLS J M, et al. Generating human intestinal tissue from pluripotent stem cells *in vitro*[J]. *Nature Protocols*, 2011, 6(12): 1920-1928.
- [25] FENG L, XIAO X, LIU J, et al. Immunomodulatory effects of *Lycium barbarum* polysaccharide extract and its uptake behaviors at the cellular level[J]. *Molecules*, 2020, 25(6): 1351.
- [26] WILLIAMS K M, GOKULAN K, CERMIGLIA C E, et al. Size and dose dependent effects of silver nanoparticle exposure on intestinal permeability in an *in vitro* model of the human gut epithelium[J]. *Journal of Nanobiotechnology*, 2016, 14(1): 62.
- [27] YANG L, LIU Y, WANG M, et al. Quercetin-induced apoptosis of HT-29 colon cancer cells via inhibition of the Akt-CSN6-Myc signaling axis[J]. *Molecular Medicine Reports*, 2016, 14(5): 4559-4566.
- [28] HASAN N M, JOHNSON K F, YIN J, et al. Obesity phenotypes are preserved in intestinal stem cell enteroids from morbidly obese patients[J] *BioRxiv* [Preprint], 2020.
- [29] ZIETEK T, RATH E, HALLER D, et al. Intestinal organoids for assessing nutrient transport, sensing and incretin secretion[J]. *Scientific Reports*, 2015, 5: 1-10.
- [30] FILIPPELLO A, MAURO S D, SCAMPORRINO A, et al. High glucose exposure impairs L-cell differentiation in intestinal

- organoids: molecular mechanisms and clinical implications[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2021, 22(13): 6660.
- [ 31 ] KAR S K, HEE B, LOONEN L, et al. Effects of undigested protein-rich ingredients on polarised small intestinal organoid monolayers[J]. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 2020: 11.
- [ 32 ] WANG Y, HOU Q, WU Y, et al. Methionine deficiency and its hydroxy analogue influence chicken intestinal 3-dimensional organoid development[J]. *Animal Nutrition*, 2021, 8: 38–51.
- [ 33 ] 彭丽媛. 牛乳铁蛋白肽对肠粘膜屏障的保护作用及其机制研究 [D]. 杭州: 浙江工商大学, 2020. [ PENG L Y, Research on protection and mechanism of bovine lactoferricin on intestinal barrier[D]. Hangzhou: Zhejiang Gongshang University, 2020. ]
- [ 34 ] JUNG H P, TAKENORI K, TASUKU K, et al. Promotion of intestinal epithelial cell turnover by commensal bacteria: Role of short-chain fatty acids[J]. *PLoS One*, 2016, 11(5): 1–22.
- [ 35 ] SEMIR B, MIYEKO D M, JATIN R, et al. High-fat diet enhances stemness and tumorigenicity of intestinal progenitors[J]. *Nature: International Weekly Journal of Science*, 2016, 531: 53–58.
- [ 36 ] JATTAN J, RODIA C, LI D, et al. Using primary murine intestinal enteroids to study dietary TAG absorption, lipoprotein synthesis, and the role of apoC-III in the intestine[J]. *Journal of Lipid Research*, 2017, 58(5): 853–865.
- [ 37 ] LI D, DONG H L, KOHAN A B. The isolation, culture, and propagation of murine intestinal enteroids for the study of dietary lipid metabolism[J]. *Methods in Molecular Biology (Clifton, N. J.)*, 2019: 1576.
- [ 38 ] QI Y, LOHMAN J, BRATLIE K M, et al. Vitamin C and B3 as new biomaterials to alter intestinal stem cells[J]. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 2019, 107(9): 1886–1897.
- [ 39 ] YAMADA S, KANDA Y. Retinoic acid promotes barrier functions in human iPSC-derived intestinal epithelial monolayers-ScienceDirect[J]. *Journal of Pharmacological Sciences*, 2019, 140(4): 337–344.
- [ 40 ] SITTIPO P, KIM H K, HAN J, et al. Vitamin D3 suppresses intestinal epithelial stemness via ER stress induction in intestinal organoids[J]. *Stem Cell Research & Therapy*, 2021, 12(1): 1–11.
- [ 41 ] SEIWERT N, WECKLEIN S, DEMUTH P, et al. Heme oxygenase 1 protects human colonocytes against ROS formation, oxidative DNA damage and cytotoxicity induced by heme iron, but not inorganic iron[J]. *Cell Death & Disease*, 2020, 11(9): 1–16.
- [ 42 ] PIERSON H, MUCHENDITSI A, KIM B E, et al. The function of ATPase copper transporter ATP7B in intestine[J]. *Gastroenterology*, 2017: 168–180.
- [ 43 ] CAI T, QI Y, JERGENS A, et al. Effects of six common dietary nutrients on murine intestinal organoid growth[J]. *PLoS One*, 2018, 13(2): 1–14.
- [ 44 ] PRASAD N R, KARTHIKEYAN A, KARTHIKEYAN S, et al. Inhibitory effect of caffeic acid on cancer cell proliferation by oxidative mechanism in human HT-1080 fibrosarcoma cell line[J]. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 2011, 349(1–2): 11–19.
- [ 45 ] FENG Z, LI T, WU C, et al. Monosodium l-glutamate and dietary fat exert opposite effects on the proximal and distal intestinal health in growing pigs[J]. *Appl Physiol Nutr Metab*, 2015, 40(4): 353–363.
- [ 46 ] 王稣婧. 绿原酸对 LPS 诱导小鼠肠上皮损伤的保护机制研究 [D]. 杭州: 浙江工商大学, 2020. [ WANG S Q. Protective mechanism of chlorogenic acid on LPS-induced intestinal epithelial injury of mouse[D]. Hangzhou: Zhejiang Gongshang University, 2020. ]
- [ 47 ] KACZMAREK J L, LIU X, CHARRON C S, et al. Broccoli consumption affects the human gastrointestinal microbiota[J]. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 2019, 63: 27–34.
- [ 48 ] KOLLURI S K, JIN U H, SAFE S. Role of the aryl hydrocarbon receptor in carcinogenesis and potential as an anti-cancer drug target[J]. *Archives of Toxicology*, 2017, 91(7): 2497–2513.
- [ 49 ] PARK J H, LEE J M, LEE E J, et al. Indole-3-carbinol promotes goblet-cell differentiation regulating Wnt and Notch signaling pathways AhR-dependently[J]. *Molecules and Cells*, 2018, 41(4): 290–300.
- [ 50 ] ZHANG B, ZHU X, TIAN X, et al. Procyanidin B2 promotes intestinal injury repair and attenuates colitis-associated tumorigenesis via suppression of oxidative stress in mice[J]. *Antioxidants & Redox Signaling*, 2020, 35(2): 1–41.
- [ 51 ] CASANOVA M À, GONZALEZ A N, SERRANO J, et al. Long term exposure to a grape seed proanthocyanidin extract enhances L-cell differentiation in intestinal organoids[J]. *Molecular Nutrition & Food Research*, 2020, 64(16): 1–21.
- [ 52 ] 孔秀楠. 食用黄色素对小肠肠道细胞增殖分化的影响 [D]. 杭州: 浙江工商大学, 2020. [ KONG X N. Effect of yellow food colorants on proliferation and differentiation of small intestinal cells[D]. Hangzhou: Zhejiang Gongshang University, 2020. ]
- [ 53 ] KONG X, WANG X, QIN Y, et al. Effects of sunset yellow on proliferation and differentiation of intestinal epithelial cells in murine intestinal organoids[J]. *Journal of Applied Toxicology*, 2020, 41(6): 953–963.
- [ 54 ] 张丽颖. 山梨酸钾和糖精钠联合对小鼠小肠细胞生长发育的影响 [D]. 杭州: 浙江工商大学, 2020. [ ZHANG L Y. Effects of the combination of potassium sorbate and saccharin sodium on the growth and development of mice small intestinal epithelial cells[D]. Hang Zhou: Zhejiang Gongshang University, 2020. ]