



类器官芯片

王亚清¹, 陶婷婷¹, 秦建华^{1,2*}

1. 中国科学院大连化学物理研究所生物技术部, 大连 116023;

2. 中国科学院大学, 北京 100049

* 联系人, E-mail: [jqin@dicp.ac.cn](mailto:jhqin@dicp.ac.cn)

收稿日期: 2022-04-24; 接受日期: 2022-07-29; 网络版发表日期: 2022-11-15

中国科学院战略性先导科技专项(批准号: XDA16020900, XDA16021300, XDB29050301)、国家自然科学基金(批准号: 31971373, 32171406)和中国博士后科学基金(批准号: 2021M703152)资助

摘要 类器官芯片是一种新兴前沿交叉技术, 它通过整合类器官与器官芯片, 可在体外构筑具有高度生理关联性的器官模型系统, 在组织器官发育、疾病研究、药物筛选和再生医学等领域具有重要的应用潜力. 本文概述了类器官芯片的产生、技术特点及研究进展, 并对其未来发展和面临的挑战进行了展望.

关键词 类器官芯片, 类器官, 干细胞, 疾病研究, 药物筛选

1 引言

随着生命科学领域的快速发展, 传统二维细胞和动物模型已远远不能满足现代生物医学研究和新药研发的迫切需求. 建立新一代实验模型和研究模式对深入理解人类健康和疾病过程, 开发有效治疗措施具有重要意义. 类器官(organoids)是近年来发展起来的一种体外器官模型, 它主要是指通过干细胞自组织方式, 在体外三维(3D)培养条件下分化形成的细胞组织复合体^[1~3]. 类器官通常具有人体来源组织或器官的部分关键结构和功能特征, 已在组织器官发育、疾病模拟、药物筛选和再生医学等领域显示出重要应用前景, 在2017年被*Nature Methods*杂志列为年度技术. 近几年, 类器官领域发展迅速, 目前已报道建立了一系列针对人类多种脏器(如脑、肝、肾和肠等)的类器官模型^[4~7], 并开始用于生物学、医学和药学等领域研究.

但现有类器官培养体系在细胞基质均一性、组织微环境可控性、类器官成熟度以及高通量分析等方面仍面临很多挑战, 这在一定程度上也制约了其广泛应用. 将工程学和材料学等多学科手段与类器官相结合, 为应对上述问题和挑战提供了新的途径.

类器官芯片(organoids-on-a-chip)是一种新兴交叉技术, 它通过整合类器官与器官芯片, 可以创建更接近体内生理特点的组织微环境, 并可集成多种分析手段, 为深入开展类器官研究提供了新的思路^[8~11]. 本文将围绕类器官芯片领域研究现状, 着重介绍类器官芯片的产生、主要特点及其最新研究进展, 并对其未来发展趋势和面临的挑战予以展望.

2 类器官简介

类器官通常是指由干细胞或组织前体细胞自组织

引用格式: 王亚清, 陶婷婷, 秦建华. 类器官芯片. 中国科学: 生命科学, 2023, 53: 211–220

Wang Y Q, Tao T T, Qin J H. Organoids-on-a-chip (in Chinese). *Sci Sin Vitae*, 2023, 53: 211–220, doi: [10.1360/SSV-2022-0027](https://doi.org/10.1360/SSV-2022-0027)

形成的3D多细胞结构。其中, 干细胞包括胚胎干细胞(embryonic stem cells, ESCs)、诱导多能干细胞(human induced pluripotent stem cells, hiPSCs)和成体干细胞(adult stem cells, ASCs), ESCs和hiPSCs统称为多能干细胞(PSCs), 这些干细胞都具有自我更新和多向分化的特点。一般而言, PSCs在3D培养条件下可聚集形成拟胚体(embryoid body, EB), 并通过诱导分化产生三个不同胚层(外胚层、中胚层和内胚层), 最终形成特定组织的类器官, 这一过程类似于早期胚胎发育。通常, 类器官具有稳定的遗传学特征, 能在体外进行长期培养。与传统2D培养的细胞相比, 类器官包含更为丰富的多种组织细胞类型, 具有更加紧密的细胞间连接和相互作用, 能更好地模拟特定组织器官的发生及功能特点。目前, 大多类器官的产生过程可再现体内组织器官发育的几个主要事件, 如自我更新、空间特异的细胞谱系分化和自组织等。

2009年, Clevers课题组^[6]将Lgr5⁺小肠干细胞进行3D培养, 成功实现了人ASCs来源肠类器官的体外构建, 开拓了类器官研究新方向。目前, 国内外研究者已建立了针对人体不同组织器官的多种类器官培养体系, 用以模拟特定器官发育的主要特征, 如脑^[5,12~15]、肠^[6,16,17]、肝^[7,18]、肺^[19]和视网膜类器官^[20,21]等。这些类器官模型为组织发育、疾病模拟、药物筛选和细胞治疗等研究提供了新的途径。近年来, 脑和肠类器官的研究发展迅速。PSCs可在特定生长因子条件下衍生出具有不同神经元类型(如皮层神经元^[22]和中脑多巴胺神经元^[23])和脑区结构的脑类器官^[5,12], 再现胎儿大脑早期发育过程。这些脑类器官还可用于研究小头症和寨卡病毒(ZIKV)以及新冠病毒(SARS-CoV-2)感染等病理过程^[5,24,25]。由ASCs或PSCs衍生的肠类器官可模拟体内肠隐窝结构, 以及肠吸收和分泌功能等, 并可用于肠炎等疾病研究^[6,26,27]。此外, Lgr5⁺肝干细胞或PSCs衍生的肝类器官包含了肝细胞和胆管细胞等多种细胞类型, 可用于研究肝纤维化和乙型肝炎等肝脏疾病^[28,29]。除了干细胞来源类器官, 不同遗传背景的肿瘤组织来源类器官在肿瘤生物学研究、预测个体水平的药物反应、药物筛选与精准治疗等方面也具有重要价值^[30~32]。

3 现有类器官培养体系及其局限

目前, 类器官的培养方式主要包括包埋法、悬浮

培养法和气液界面培养法等^[5,6,26,27,33~36], 研究者可通过添加特定生长因子来诱导产生不同的类器官。一般而言, 类器官的产生是将干细胞形成的EBs包埋在细胞外基质(如Matrigel)中进行静态培养, 并进一步通过自我组织形成的, 如脑和视杯样类器官等^[5,37]。值得关注的是, 由于体内组织器官内在功能的复杂性, 现有类器官培养体系仍存在诸多局限。例如, 动物源性的Matrigel可作为支架材料维持类器官的增殖和分化, 但由于其成分复杂, 且具有批次间差异, 可能会导致类器官培养体系的不稳定, 进而影响类器官产生的可重复性。又如, 大部分类器官尺寸处于微米至毫米级, 常规静态培养体系可能导致类器官在生长过程中容易因营养物质交换不足而出现中心细胞坏死现象, 进而影响类器官的功能成熟和长期存活。此外, 类器官培养过程中需要繁琐手工操作、分析通量低、难以实现微环境调控以及类器官间相互作用研究, 这也限制了其转化应用。

4 类器官芯片的产生及特点

类器官芯片的产生主要源于器官芯片前沿技术的快速发展。它通过整合类器官与器官芯片的优势特点, 可在体外模拟复杂的组织微环境, 有助于引导干细胞的生长、分化以及类器官形态发生, 克服现有类器官研究中的局限。本研究团队早期将器官芯片技术引入类器官研究领域, 利用发育学和工程学协同策略, 在芯片上实现了脑、胰岛和肝等类器官的原位分化、3D动态培养和高通量产生^[9,10,38~41], 促进了类器官的功能成熟与微环境的可控性。另有研究者也报道了肾和肠等多种类器官芯片体系^[42~44], 显示了该技术在类器官研究中的独特优势。

4.1 3D可控动态培养

类器官芯片可通过精确控制微流体实现类器官的动态培养, 模拟组织器官在体内动态微环境中的发育和产生。这种动态培养体系不仅有利于类器官的长期存活和功能维持, 也可研究剪切力因素对类器官分化的影响。本团队^[38]早期构建了一种可灌注培养的胰岛类器官芯片体系, 发现机械流体可通过调节细胞外黏附蛋白的表达来促进胰岛类器官的成熟及其胰岛素分泌功能(图1D)。类似地, 芯片动态培养环境也有利于

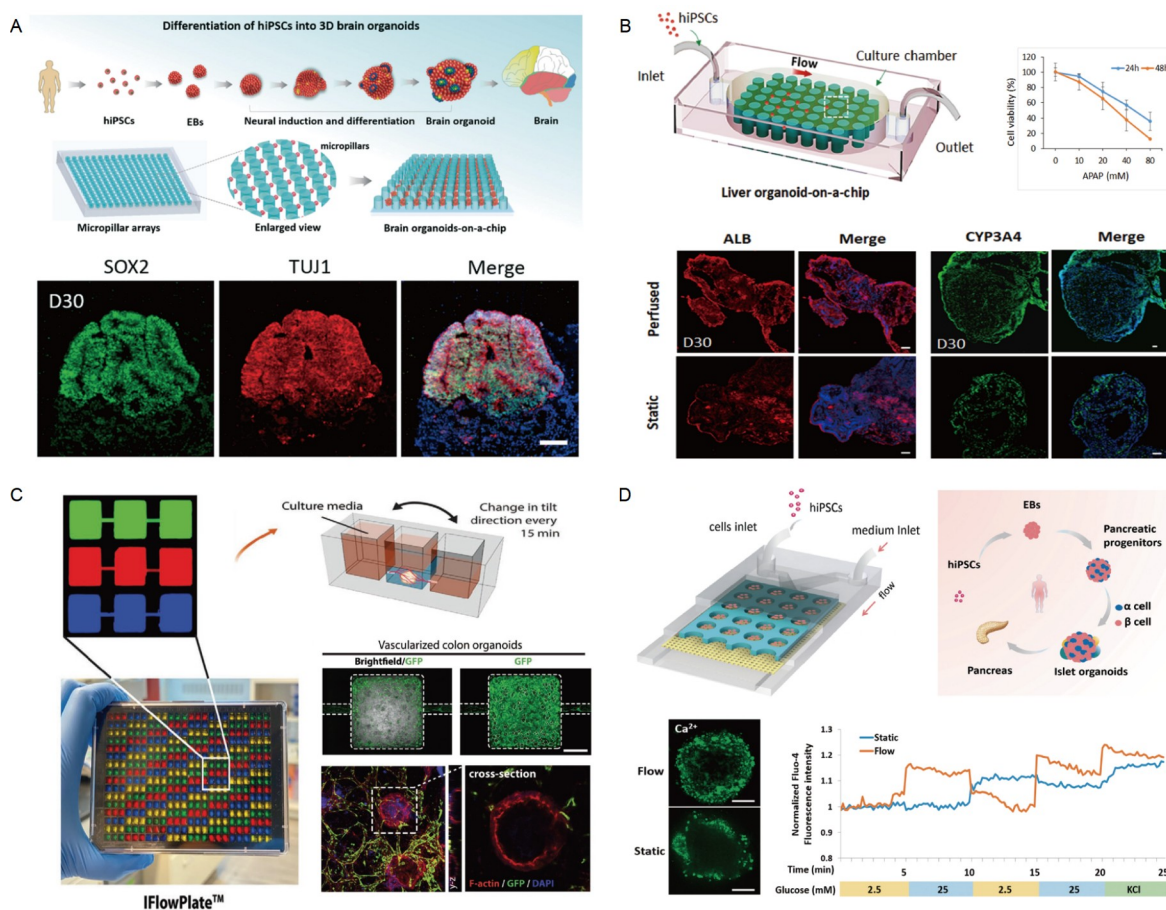


图 1 类器官芯片研究进展. A: 脑类器官芯片^[9]; B: 肝类器官芯片用于药物测试^[39]; C: 肠类器官芯片模拟结肠炎症(图片引自 Rajasekar et al., 2020^[73], 已获得 John Wiley and Sons 版权许可); D: 胰岛类器官芯片^[38]

Figure 1 Representative types of human organoids-on-chips. A: Brain organoids-on-a-chip^[9]; B: Liver organoids-on-a-chip for drug test^[39]; C: Colon organoids-on-a-chip mimicking colon inflammation (Reproduced from Rajasekar et al., 2020^[73] with permission from John Wiley and Sons); D: Islet organoids-on-a-chip^[38]

PSCs来源的脑和肝类器官的发育和成熟^[39,45]。类器官芯片还可通过图案化微结构控制拟胚体的大小,这有利于产生形态更为均一的类器官。此外,一些关键的细胞类型,如免疫细胞、血管内皮细胞和神经细胞等对类器官的形态发生和功能成熟起到重要作用。而类器官芯片可以通过不同培养通道或微结构实现类器官与其他类型细胞或微生物的共培养,如肠道类器官与微生物共培养^[46],以更准确地实现组织器官发育过程中细胞间的相互作用和微生理模拟。

4.2 组织微环境仿生

体内组织器官的发生受到内部基因和外部微环境因素的协同调控。现有类器官体系中,通常在培养基中施加多种特定浓度的生长因子来促进类器官的形态发

生。然而,外部微环境因素,包括生物化学(因子梯度、氧气、pH等)和生物物理因素(机械力、拓扑结构、电信号等)对类器官的发育和形成也具有重要影响。类器官芯片可通过微加工技术实现各种生物力的体外模拟。这些力学作用已被用于控制特定类器官的形态发生,模拟体内器官生理特点。例如, Lee等人^[47]构建了一种具有腔内蠕动流的人胃类器官芯片,通过控制腔内流体的流动来调节胃类器官的节律性收缩和舒张,模拟胃的蠕动。该模型可实现胃类器官的长期培养和实时成像。此外,类器官芯片可根据组织结构特点,通过不同的拓扑结构控制干细胞的分化和组装,这在一定程度上可减少类器官产生过程中的变异性。例如,研究人员设计了类似肠隐窝结构的图案化微结构,用于导向肠干细胞的定向分化,模拟肠绒毛的产生^[48,49]。

另外, 因子梯度的形成对于依赖轴向发育模式的类器官发生起关键作用, 类器官芯片可通过控制微流体驱动或促使细胞因子在基质胶中扩散, 产生因子浓度梯度, 从而导向干细胞的分化. 早期研究表明, 可通过在芯片的基质胶通道内产生SHH, RA或BMP等因子的正交浓度梯度来模拟神经管中运动神经元的局部分化特征^[50,51]. 最近, Rifes等人^[52]利用基于层流扩散原理的芯片产生了WNT浓度梯度, 并形成近100 μm 厚度的条状神经管组织, 用于模拟早期人神经管的前-后轴发育过程.

已有研究表明, 成分确定的天然或合成水凝胶材料可为一些类器官的生长发育提供支架和营养成分^[16,53,54], 模拟组织特异的基质微环境, 并可通过调节材料的理化因素(如机械强度等)影响类器官的形态发生. 因此, 类器官芯片与生物材料的结合将更有效地调节和改善组织微环境, 从而引导类器官的生长发育, 减少类器官产生的变异性^[55]. Cherne等人^[56]将多糖水凝胶与类器官芯片结合, 实现了胃类器官和树突状细胞的互作培养, 证明水凝胶可维持胃类器官生长并增加树突状细胞的趋化性, 这有利于研究胃肠道免疫监测反应和类器官-免疫细胞间复杂的相互作用.

4.3 组织器官血管化

血管结构对于类器官的功能成熟和长期培养至关重要. 血管网络的形成可以维持足够的营养供应和氧气交换, 有利于减少类器官在生长过程中其内部细胞的坏死, 延长类器官的发育和生存时间. 类器官芯片可通过在微通道中可控灌注微流体模拟血液流动, 为血管化类器官的体外构建提供新策略. 流体灌注产生的剪切力也可通过调节内皮细胞功能促进血管结构的发生^[57-59]. 例如, Homan等人^[42]利用可灌流的芯片装置培养PSCs来源的肾类器官, 发现在肾类器官发育过程中, 高流体剪切力可促进血管内皮细胞的产生, 进而促进类器官的功能成熟和管腔结构形成. 这些结果提示剪切力因素可能激活了类器官内源性的血管发生途径, 这为血管化类器官的体外构建提供了新的思路. 此外, 功能性脉管系统或血管床对于大尺寸类器官的存活和成熟是必要的. 利用类器官芯片可以构建具有不同层级结构的血管网络^[60]及其他管道化结构, 如胆管^[61]和淋巴管^[62]等, 模拟管道微生理结构和功能, 为血管化或其他管道化类器官的产生提供3D组织支架.

4.4 高通量分析

类器官通常在培养皿里产生, 这种单一的培养体系限制了对类器官的高通量数据检测和多功能分析. 类器官芯片可集成多模态生物传感器件, 包括显微成像、荧光测定和多电极阵列等, 便于在线监测类器官的行为, 实时分析生物过程和组织功能^[63,64]. 同时, 生物传感器也有利于精确评估培养微环境的参数和器官对药物的长期、动态反应. 例如, Zhang等人^[65]将多模传感器集成于芯片平台用于自动、连续的类器官行为监测. 该平台具有器官单元模块化以及生化、物理和光学多模传感集成的特点, 可以实现理化参数的自动化原位监测, 为研究多种器官间相互作用和药物测试提供新技术平台. 此外, 类器官芯片系统集成高通量、自动化和实时分析, 有望实现高效、低成本的药物筛选. Tay课题组^[66]提出了一种将肿瘤类器官高通量培养和分析集成的芯片系统, 用于抗肿瘤药物的筛选、药效实时监测和分析. 该体系不仅有利于在可控微环境下产生大量类器官, 也能同时观察分析不同患者来源的类器官对药物的差异性反应, 为高通量药物筛选和个性化治疗提供了有潜力的平台.

4.5 组织器官间互作

人体内各种生命活动, 包括糖脂代谢、免疫反应、药物吸收等都是多个组织器官相互协调作用的结果. 类器官芯片可通过模块化设计进行多种类器官的共培养, 实现不同组织器官的功能耦联^[67,68], 这有助于深入研究涉及多种组织器官功能关联的复杂生物过程, 如器官发育调控、疾病进程和药物反应等. 有报道了一种仿生人肠-肝-脑类器官微生理系统, 并与免疫细胞和肠道微生物结合研究神经退行性疾病帕金森的病理机制^[69]. 通过研究不同器官的免疫反应和宿主-微生物之间特异性的相互作用发现肠道微生物来源的短链脂肪酸能够加速帕金森的发病进程. 类器官互作芯片体系在一定程度上解决了传统器官芯片中细胞系、动物细胞等细胞来源的局限, 以多种类型的类器官为研究对象, 可为人体系统性疾病研究和药物开发提供新的平台.

5 类器官芯片研究进展

近几年, 类器官芯片技术已经取得了一些重要进

展, 研究人员相继建立了多种类器官芯片体系, 如脑^[10,40,41,70]、肠^[44,71~73]、肝^[39]、胰岛^[38,74]、肾^[42]、视网膜^[75]等(表1). 通过构建可控的干细胞微环境, 这些类器官芯片体系可以促进类器官的发育和成熟, 并初步用于组织发育学、药物测试和疾病模拟等研究.

5.1 脑类器官芯片

人脑具有复杂的结构和功能, 脑发育受到细胞内部基因表达和外部动态微环境的协同调控. 脑类器官是由人多能干细胞在体外分化形成的3D组织, 主要包括神经前体细胞、神经元和胶质细胞等细胞类型. 它能够再现人脑早期发育过程中的关键特征, 包括下丘脑、中脑、背侧皮层、腹侧端脑、脉络丛、海马等不同的脑区结构和电生理功能^[5,12,78~80]. 尽管这些脑类器官体系在神经发育和脑疾病研究领域取得了一定进展^[81~83], 但仍存在较大的异质性, 包括难以控制的微环境因素和细胞外基质成分, 限制了其在大规模药物评价和疾病研究中的应用. 本团队利用微阵列芯片实现了干细胞来源拟胚体的均一化形成, 脑类器官的原位分化和3D培养^[9], 这种拓扑结构有利于高通量获得形态一致的类脑组织, 减少类器官的变异性(图1A). 本团队^[45]进一步建立了多通道可灌注培养的脑类器官芯片, 探究了机械流体因素对脑类器官发育的影响, 发现机械流体因素可促进神经前体和皮层神经元的分化, 并有利于不同脑区结构组装形成. 在此基础上, 利用脑类器官芯片体系研究了环境暴露物, 如重金属

镉、丙戊酸钠、酒精和尼古丁等对胎儿脑发育的影响^[10,40,41,84], 为神经系统疾病研究和相关药物评价奠定了基础. Karzbrun等人^[70]建立了一种具有空间限制的芯片小室, 用于脑类器官的培养和发育. 随着脑类器官的生长, 芯片产生的压缩力促使脑类器官发生结构上的褶皱和卷曲, 较好地模拟了大脑发育过程中褶皱形成的物理过程. 由于体内脑发育过程主要依赖于轴向模式(如前-后轴和背-腹轴), 类器官芯片可通过形成因子梯度以期更精确地模拟脑类器官发育过程.

5.2 肝类器官芯片

肝脏是人体最大的实质性器官, 富含血管网, 具有糖原及白蛋白合成、解毒、代谢和胆汁分泌等重要功能. 干细胞衍生的肝类器官具有器官特异的多细胞组成, 包含胆管和肝细胞等, 具有肝脏代谢和蛋白合成等功能^[18,85~87], 可作为一种新的体外肝模型用于疾病机制研究和药物测试等应用. 然而, 在体外维持肝组织特异的生物学特性和功能仍是目前体外构建仿生肝模型的难点之一. 本团队^[39]设计了一种可灌注的微柱阵列芯片装置, 实现了hiPSCs来源拟胚体的高通量、可控产生, 肝谱系原位分化, 以及肝类器官的形成(图1B). 这些分化流程可一体化整合在芯片上, 大大简化了类器官培养的繁琐操作. 此外, 发现机械流体有利于肝发育过程中的内胚层分化, 从而促进肝类器官的有效产生并提高肝特异性功能, 如白蛋白分泌和CYP450酶活性等. 肝类器官芯片体系还可用于肝毒性药物测

表 1 类器官芯片研究现状及应用

Table 1 Recent progress of human organoids-on-chips and their applications

类型	来源	应用	参考文献
脑	hiPSCs	模拟脑早期发育过程和产前环境因素暴露(尼古丁、重金属镉、酒精)	[9, 10, 40, 41, 45]
	hESC	模拟大脑折叠的物理过程	[70]
肠	hASCs/hPSCs	模拟肠绒毛结构和生理功能, 包括营养物质消化、黏液分泌和肠道屏障功能	[71,72]
	hiPSCs	模拟肠隐窝和绒毛结构的排列和生理功能	[44]
	hASCs	产生血管化结肠类器官, 模拟结肠炎症	[73]
肝	hiPSCs	肝毒性药物测试, 模拟非酒精性脂肪肝病	[39,76]
胰岛	hiPSCs	模拟胰岛发育过程	[38,74]
胃	hPSCs	模拟胃生理蠕动	[47]
肾	hPSCs	肾类器官的血管发生	[42]
视网膜	hiPSCs	模拟视网膜生理结构和功能, 如血管灌注和细胞间相互作用, 并用于药物测试	[75]
肝-胰岛	hiPSCs	模拟肝-胰岛轴和二型糖尿病	[77]

试(如对乙酰氨基酚等). 在此基础上, 本团队利用该体系模拟了非酒精性脂肪肝(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)的发生发展过程. 在游离脂肪酸暴露条件下, 肝类器官表现出一系列NAFLD的关键病理特征, 包括脂滴形成、甘油三酯积累和肝纤维化等, 这对于更好地理解NAFLD的发生机制以及药物开发具有重要意义^[76]. 未来, 肝类器官芯片体系可能会为肝免疫炎症、病毒感染等疾病研究、药物开发和个体化治疗提供新的技术平台. 利用病人来源的iPSC细胞, 可获得含致病基因的个体化肝类器官体系; 通过集成监测装置和高通量元素, 有望实现临床前药物筛选、药效评价和毒性预测. 另外, 尽管已有研究报道, 血管化肝类器官可通过肝前体细胞、间充质干细胞和内皮细胞的自组织形成^[7], 但在体外形成肝类器官内可灌通的血管结构仍面临挑战, 利用类器官芯片策略有望解决这一难题.

5.3 肠类器官芯片

人肠道组织是由肠干细胞及其分化的多种功能细胞通过自我更新和自组织形成的高度复杂结构. Lgr5⁺肠干细胞位于肠隐窝的底部, 它可以分化成不同类型的肠上皮细胞, 包括具有吸收功能的肠上皮细胞、肠内分泌细胞、分泌黏液的杯状细胞和产生溶菌酶的潘氏细胞^[88]. 依据体内肠发育原理, Clevers团队^[6]首次培养出肠干细胞衍生的肠类器官, 包含四种主要的肠上皮细胞类型. 类器官芯片技术为肠类器官的可控性产生提供了新的策略. 例如, Barrett团队^[71]在可灌注芯片上培养肠类器官, 发现流体可促进肠上皮细胞折叠, 形成极性的肠绒毛样结构, 其包含所有的肠上皮细胞亚型, 并对外源刺激有生物响应性. 这证明了流体有利于肠类器官的复杂生理结构形成. 进一步, Nikolaev等人^[44]结合微加工方法建立了具有类似肠绒毛凹陷结构的可灌注器官芯片平台, 将肠ASCs灌注到芯片通道内, 发现微结构可导向肠干细胞的分化, 并且流体循环系统有利于清除死细胞, 维持类器官的长期生长. 值得注意的是, 该系统有效地提高了肠类器官的分化能力, 发现并富集了罕见的肠道细胞, 如微褶细胞和肠内分泌细胞, 这在传统静态培养条件下是难以实现的. 该体系也为体外模拟肠道微生物感染和共生提供了有价值的平台. 此外, 有报道将病人来源的结肠类器官与血管床共培养用于构建血管化的肠类器

官^[73](图1C), 发现肠类器官在含有血管床的培养体系上发育得更好. 尽管在结肠类器官周围发现了可灌注的血管结构, 但仍没有直接证据表明类器官内部有血管的灌通或功能性吻合, 未来可结合更多工程策略来改善该体系中类器官的结构和功能.

5.4 类器官互作芯片

体内药物的吸收、运输、代谢和排出涉及多种器官间的相互协作, 传统类器官体系难以真实地模拟这种复杂的生理过程. 本团队设计了一种hiPSCs来源的心肌-肝类器官芯片体系, 通过多层分区设计实现两种类器官的共培养, 用于抗抑郁药氯米帕明的药物毒性研究. 结果显示, 该药物在体内具有肝代谢依赖性的心脏毒副作用^[89]. 在另外的研究中, 研究者发现有些药物反应的出现依赖于组织间的相互作用, 这提示在研究药物的疗效和副作用时, 只针对一种器官进行药物评估可能会出现较大偏差, 因而应同时考虑多种器官间的相互作用. 此外, 通过构建多个不同类器官相互连接的“多器官芯片”可模拟器官生理微环境和功能耦联, 从而更加准确地模拟体内器官间生理和病理互作, 这有助于在器官水平深入理解人体系统性疾病的发生并促进其药物开发. 糖尿病是一种以慢性高血糖为主要特征的复杂代谢性疾病, 涉及肝和胰岛等多种组织器官在糖稳态调控过程中的功能联系. 近期, 本团队^[77]率先建立了一种人多能干细胞来源的肝-胰岛类器官互作芯片体系, 在分区设计的微阵列芯片上实现了肝和胰岛类器官的动态培养和相互作用研究, 模拟了高糖条件下II型糖尿病的主要病理特征和对降糖药二甲双胍的响应. 该工作可在体外再现人肝-胰岛轴在生理和病理情况下的糖调控特点, 为糖尿病等复杂代谢性疾病研究和新药发现等提供新的工具.

6 总结与展望

综上所述, 类器官芯片已经在生物医学等领域显示出重要应用潜力, 它有利于类器官通量产生、血管化形成、类器官互作以及组织微环境控制, 显著弥补了现有类器官研究中的一些局限. 此外, 它还可以集成高通量检测和多功能分析手段, 有利于动态监测复杂生物学过程, 进行高通量药物筛选与评估, 为体外

构建更高可信度的3D组织器官模型及其转化研究提供新的解决方案。

现阶段,类器官芯片还处于发展初期,尚有很大发展空间。未来,类器官芯片与其他多学科手段交叉融合,可进一步提高类器官模型系统的高保真度和准确性。比如,类器官芯片与生物打印技术和新型生物材

料结合,有利于制备具有多层级复杂结构和大尺度的功能类器官;与基因编辑、多组学分析、高分辨成像和人工智能等方法结合,有助于深入认识解析器官发育过程和疾病机理。因此,这需要材料学、工程学、生物学和医学等多领域专业人员的共同协作,以推动类器官领域的基础研究和转化应用。

参考文献

- Kim J, Koo B K, Knoblich J A. Human organoids: model systems for human biology and medicine. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2020, 21: 571–584
- Lancaster M A, Knoblich J A. Organogenesis in a dish: modeling development and disease using organoid technologies. *Science*, 2014, 345: 1247125
- Rossi G, Manfrin A, Lutolf M P. Progress and potential in organoid research. *Nat Rev Genet*, 2018, 19: 671–687
- Takasato M, Er P X, Becroft M, et al. Directing human embryonic stem cell differentiation towards a renal lineage generates a self-organizing kidney. *Nat Cell Biol*, 2014, 16: 118–126
- Lancaster M A, Renner M, Martin C A, et al. Cerebral organoids model human brain development and microcephaly. *Nature*, 2013, 501: 373–379
- 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
- Takebe T, Sekine K, Enomura M, et al. Vascularized and functional human liver from an iPSC-derived organ bud transplant. *Nature*, 2013, 499: 481–484
- Takebe T, Zhang B, Radisic M. Synergistic engineering: organoids meet organs-on-a-chip. *Cell Stem Cell*, 2017, 21: 297–300
- Zhu Y, Wang L, Yu H, et al. *In situ* generation of human brain organoids on a micropillar array. *Lab Chip*, 2017, 17: 2941–2950
- Wang Y, Wang L, Zhu Y, et al. Human brain organoid-on-a-chip to model prenatal nicotine exposure. *Lab Chip*, 2018, 18: 851–860
- Park S E, Georgescu A, Huh D. Organoids-on-a-chip. *Science*, 2019, 364: 960–965
- Qian X, Nguyen H N, Song M M, et al. Brain-region-specific organoids using mini-bioreactors for modeling ZIKV exposure. *Cell*, 2016, 165: 1238–1254
- Bagley J A, Reumann D, Bian S, et al. Fused cerebral organoids model interactions between brain regions. *Nat Methods*, 2017, 14: 743–751
- Lancaster M A, Corsini N S, Wolfinger S, et al. Guided self-organization and cortical plate formation in human brain organoids. *Nat Biotechnol*, 2017, 35: 659–666
- Lindborg B A, Brekke J H, Vegoe A L, et al. Rapid induction of cerebral organoids from human induced pluripotent stem cells using a chemically defined hydrogel and defined cell culture medium. *Stem Cells Transl Med*, 2016, 5: 970–979
- Gjorevski N, Sachs N, Manfrin A, et al. Designer matrices for intestinal stem cell and organoid culture. *Nature*, 2016, 539: 560–564
- Crespo M, Vilar E, Tsai S Y, et al. Colonic organoids derived from human induced pluripotent stem cells for modeling colorectal cancer and drug testing. *Nat Med*, 2017, 23: 878–884
- Guan Y, Xu D, Garfin P M, et al. Human hepatic organoids for the analysis of human genetic diseases. *JCI Insight*, 2017, 2: e94954
- Han Y, Duan X, Yang L, et al. Identification of SARS-CoV-2 inhibitors using lung and colonic organoids. *Nature*, 2021, 589: 270–275
- Völkner M, Zschätzsch M, Rostovskaya M, et al. Retinal organoids from pluripotent stem cells efficiently recapitulate retinogenesis. *Stem Cell Rep*, 2016, 6: 525–538
- Chen H Y, Kaya K D, Dong L J, et al. Three-dimensional retinal organoids from mouse pluripotent stem cells mimic *in vivo* development with enhanced stratification and rod photoreceptor differentiation. *Mol Vis*, 2016, 22: 1077–1094
- Espuny-Camacho I, Michelsen K A, Gall D, et al. Pyramidal neurons derived from human pluripotent stem cells integrate efficiently into mouse brain circuits *in vivo*. *Neuron*, 2013, 77: 440–456
- Chambers S M, Fasano C A, Papapetrou E P, et al. Highly efficient neural conversion of human ES and iPS cells by dual inhibition of SMAD signaling. *Nat Biotechnol*, 2009, 27: 275–280
- Pellegrini L, Albecka A, Mallery D L, et al. SARS-CoV-2 infects the brain choroid plexus and disrupts the blood-CSF barrier in human brain

- p>organoids.
- [Cell Stem Cell](#)
- , 2020, 27: 951–961.e5
- 25 Krenn V, Bosone C, Burkard T R, et al. Organoid modeling of Zika and herpes simplex virus 1 infections reveals virus-specific responses leading to microcephaly. [Cell Stem Cell](#), 2021, 28: 1362–1379.e7
 - 26 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
 - 27 Wang X, Yamamoto Y, Wilson L H, et al. Cloning and variation of ground state intestinal stem cells. [Nature](#), 2015, 522: 173–178
 - 28 Kaftanovskaya E M, Ng H H, Soula M, et al. Therapeutic effects of a small molecule agonist of the relaxin receptor ML290 in liver fibrosis. [FASEB J](#), 2019, 33: 12435–12446
 - 29 Nie Y Z, Zheng Y W, Miyakawa K, et al. Recapitulation of hepatitis B virus-host interactions in liver organoids from human induced pluripotent stem cells. [EBioMedicine](#), 2018, 35: 114–123
 - 30 Li L, Knutsdottir H, Hui K, et al. Human primary liver cancer organoids reveal intratumor and interpatient drug response heterogeneity. [JCI Insight](#), 2019, 4: e121490
 - 31 Kretzschmar K. Cancer research using organoid technology. [J Mol Med](#), 2021, 99: 501–515
 - 32 LeSavage B L, Suhar R A, Broguiere N, et al. Next-generation cancer organoids. [Nat Mater](#), 2022, 21: 143–159
 - 33 McCracken K W, Catá E M, Crawford C M, et al. Modelling human development and disease in pluripotent stem-cell-derived gastric organoids. [Nature](#), 2014, 516: 400–404
 - 34 Wong A P, Bear C E, Chin S, et al. Directed differentiation of human pluripotent stem cells into mature airway epithelia expressing functional CFTR protein. [Nat Biotechnol](#), 2012, 30: 876–882
 - 35 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
 - 36 Cruz N M, Song X, Czerniecki S M, et al. Organoid cystogenesis reveals a critical role of microenvironment in human polycystic kidney disease. [Nat Mater](#), 2017, 16: 1112–1119
 - 37 Eiraku M, Takata N, Ishibashi H, et al. Self-organizing optic-cup morphogenesis in three-dimensional culture. [Nature](#), 2011, 472: 51–56
 - 38 Tao T, Wang Y, Chen W, et al. Engineering human islet organoids from iPSCs using an organ-on-chip platform. [Lab Chip](#), 2019, 19: 948–958
 - 39 Wang Y, Wang H, Deng P, et al. *In situ* differentiation and generation of functional liver organoids from human iPSCs in a 3D perfusable chip system. [Lab Chip](#), 2018, 18: 3606–3616
 - 40 Yin F, Zhu Y, Wang Y, et al. Engineering brain organoids to probe impaired neurogenesis induced by cadmium. [ACS Biomater Sci Eng](#), 2018, 4: 1908–1915
 - 41 Zhu Y, Wang L, Yin F, et al. Probing impaired neurogenesis in human brain organoids exposed to alcohol. [Integr Biol](#), 2017, 9: 968–978
 - 42 Homan K A, Gupta N, Kroll K T, et al. Flow-enhanced vascularization and maturation of kidney organoids *in vitro*. [Nat Methods](#), 2019, 16: 255–262
 - 43 Gjorevski N, Nikolaev M, Brown T E, et al. Tissue geometry drives deterministic organoid patterning. [Science](#), 2022, 375: eaaw9021
 - 44 Nikolaev M, Mitrofanova O, Broguiere N, et al. Homeostatic mini-intestines through scaffold-guided organoid morphogenesis. [Nature](#), 2020, 585: 574–578
 - 45 Wang Y, Wang L, Guo Y, et al. Engineering stem cell-derived 3D brain organoids in a perfusable organ-on-a-chip system. [RSC Adv](#), 2018, 8: 1677–1685
 - 46 Puschhof J, Pleguezuelos-Manzano C, Clevers H. Organoids and organs-on-chips: insights into human gut-microbe interactions. [Cell Host Microbe](#), 2021, 29: 867–878
 - 47 Lee K K, McCauley H A, Broda T R, et al. Human stomach-on-a-chip with luminal flow and peristaltic-like motility. [Lab Chip](#), 2018, 18: 3079–3085
 - 48 Wang Y, Kim R, Gunasekara D B, et al. Formation of human colonic crypt array by application of chemical gradients across a shaped epithelial monolayer. [Cell Mol Gastroenterol Hepatol](#), 2018, 5: 113–130
 - 49 Creff J, Courson R, Mangeat T, et al. Fabrication of 3D scaffolds reproducing intestinal epithelium topography by high-resolution 3D stereolithography. [Biomaterials](#), 2019, 221: 119404
 - 50 Uzel S G M, Amadi O C, Pearl T M, et al. Simultaneous or sequential orthogonal gradient formation in a 3D cell culture microfluidic platform. [Small](#), 2016, 12: 612–622

- 51 Demers C J, Soundararajan P, Chennampally P, et al. Development-on-chip: *in vitro* neural tube patterning with a microfluidic device. [Development](#), 2016, 143: 1884–1892
- 52 Rifes P, Isaksson M, Rathore G S, et al. Modeling neural tube development by differentiation of human embryonic stem cells in a microfluidic WNT gradient. [Nat Biotechnol](#), 2020, 38: 1265–1273
- 53 Shkumatov A, Baek K, Kong H. Matrix rigidity-modulated cardiovascular organoid formation from embryoid bodies. [PLoS ONE](#), 2014, 9: e94764
- 54 Sorrentino G, Rezakhani S, Yildiz E, et al. Mechano-modulatory synthetic niches for liver organoid derivation. [Nat Commun](#), 2020, 11: 3416
- 55 Liu H, Wang Y, Cui K, et al. Advances in hydrogels in organoids and organs-on-a-chip. [Adv Mater](#), 2019, 31: 1902042
- 56 Cherne M D, Sidar B, Sebrell T A, et al. A synthetic hydrogel, VitroGel® ORGANOID-3, improves immune cell-epithelial interactions in a tissue chip co-culture model of human gastric organoids and dendritic cells. [Front Pharmacol](#), 2021, 12: 707891
- 57 Zhou J, Li Y S, Chien S. Shear stress-initiated signaling and its regulation of endothelial function. [Arterioscler Thromb Vasc Biol](#), 2014, 34: 2191–2198
- 58 Chistiakov D A, Orekhov A N, Bobryshev Y V. Effects of shear stress on endothelial cells: go with the flow. [Acta Physiol](#), 2017, 219: 382–408
- 59 Baeyens N, Bandyopadhyay C, Coon B G, et al. Endothelial fluid shear stress sensing in vascular health and disease. [J Clin Invest](#), 2016, 126: 821–828
- 60 Zhang S, Wan Z, Kamm R D. Vascularized organoids on a chip: strategies for engineering organoids with functional vasculature. [Lab Chip](#), 2021, 21: 473–488
- 61 Du Y, Khandekar G, Llewellyn J, et al. A bile duct-on-a-chip with organ-level functions. [Hepatology](#), 2020, 71: 1350–1363
- 62 Henderson A R, Choi H, Lee E. Blood and lymphatic vasculatures on-chip platforms and their applications for organ-specific *in vitro* modeling. [Micromachines](#), 2020, 11: 147
- 63 Barata D, van Blitterswijk C, Habibovic P. High-throughput screening approaches and combinatorial development of biomaterials using microfluidics. [Acta Biomater](#), 2016, 34: 1–20
- 64 Kim J A, Hong S, Rhee W J. Microfluidic three-dimensional cell culture of stem cells for high-throughput analysis. [World J Stem Cells](#), 2019, 11: 803–816
- 65 Zhang Y S, Aleman J, Shin S R, et al. Multisensor-integrated organs-on-chips platform for automated and continual *in situ* monitoring of organoid behaviors. [Proc Natl Acad Sci USA](#), 2017, 114: E2293–E2302
- 66 Schuster B, Junkin M, Kashaf S S, et al. Automated microfluidic platform for dynamic and combinatorial drug screening of tumor organoids. [Nat Commun](#), 2020, 11: 5271
- 67 Skardal A, Shupe T, Atala A. Organoid-on-a-chip and body-on-a-chip systems for drug screening and disease modeling. [Drug Discovery Today](#), 2016, 21: 1399–1411
- 68 Esch M B, King T L, Shuler M L. The role of body-on-a-chip devices in drug and toxicity studies. [Annu Rev Biomed Eng](#), 2011, 13: 55–72
- 69 Trapecar M, Wogram E, Svoboda D, et al. Human physiometric model integrating microphysiological systems of the gut, liver, and brain for studies of neurodegenerative diseases. [Sci Adv](#), 2021, 7: eabd1707
- 70 Karzbrun E, Kshirsagar A, Cohen S R, et al. Human brain organoids on a chip reveal the physics of folding. [Nat Phys](#), 2018, 14: 515–522
- 71 Workman M J, Gleeson J P, Troisi E J, et al. Enhanced utilization of induced pluripotent stem cell-derived human intestinal organoids using microengineered chips. [Cell Mol Gastroenterol Hepatol](#), 2018, 5: 669–677.e2
- 72 Sidar B, Jenkins B R, Huang S, et al. Long-term flow through human intestinal organoids with the gut organoid flow chip (GOFlowChip). [Lab Chip](#), 2019, 19: 3552–3562
- 73 Rajasekar S, Lin D S Y, Abdul L, et al. IFlowPlate—a customized 384-well plate for the culture of perfusable vascularized colon organoids. [Adv Mater](#), 2020, 32: 2002974
- 74 Patel S N, Ishahak M, Chaimov D, et al. Organoid microphysiological system preserves pancreatic islet function within 3D matrix. [Sci Adv](#), 2021, 7: eaba5515
- 75 Achberger K, Probst C, Haderspeck J, et al. Merging organoid and organ-on-a-chip technology to generate complex multi-layer tissue models in a human retina-on-a-chip platform. [eLife](#), 2019, 8: e46188
- 76 Wang Y, Wang H, Deng P, et al. Modeling human nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) with an organoids-on-a-chip system. [ACS Biomater Sci Eng](#), 2020, 6: 5734–5743

- 77 Tao T, Deng P, Wang Y, et al. Microengineered multi-organoid system from hiPSCs to recapitulate human liver-islet axis in normal and type 2 diabetes. *Adv Sci*, 2022, 9: 2103495
- 78 Danjo T, Eiraku M, Muguruma K, et al. Subregional specification of embryonic stem cell-derived ventral telencephalic tissues by timed and combinatory treatment with extrinsic signals. *J Neurosci*, 2011, 31: 1919–1933
- 79 Kadoshima T, Sakaguchi H, Nakano T, et al. Self-organization of axial polarity, inside-out layer pattern, and species-specific progenitor dynamics in human ES cell-derived neocortex. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, 110: 20284–20289
- 80 Suga H, Kadoshima T, Minaguchi M, et al. Self-formation of functional adenohypophysis in three-dimensional culture. *Nature*, 2011, 480: 57–62
- 81 Trujillo C A, Muotri A R. Brain organoids and the study of neurodevelopment. *Trends Mol Med*, 2018, 24: 982–990
- 82 Slanzi A, Iannoto G, Rossi B, et al. *In vitro* models of neurodegenerative diseases. *Front Cell Dev Biol*, 2020, 8: 328
- 83 Lee C T, Bendriem R M, Wu W W, et al. 3D brain organoids derived from pluripotent stem cells: promising experimental models for brain development and neurodegenerative disorders. *J Biomed Sci*, 2017, 24: 59
- 84 Cui K, Wang Y, Zhu Y, et al. Neurodevelopmental impairment induced by prenatal valproic acid exposure shown with the human cortical organoid-on-a-chip model. *Microsyst Nanoeng*, 2020, 6: 49
- 85 Clevers H. Modeling development and disease with organoids. *Cell*, 2016, 165: 1586–1597
- 86 Fatehullah A, Tan S H, Barker N. Organoids as an *in vitro* model of human development and disease. *Nat Cell Biol*, 2016, 18: 246–254
- 87 Sgodda M, Dai Z, Zweigerdt R, et al. A scalable approach for the generation of human pluripotent stem cell-derived hepatic organoids with sensitive hepatotoxicity features. *Stem Cells Dev*, 2017, 26: 1490–1504
- 88 Barker N, van Es J H, Kuipers J, et al. Identification of stem cells in small intestine and colon by marker gene Lgr5. *Nature*, 2007, 449: 1003–1007
- 89 Yin F, Zhang X, Wang L, et al. HiPSC-derived multi-organoids-on-chip system for safety assessment of antidepressant drugs. *Lab Chip*, 2021, 21: 571–581

Organoids-on-a-chip

WANG Yaqing¹, TAO Tingting¹ & QIN Jianhua^{1,2}

1 Division of Biotechnology, Dalian Institute of Chemical Physics, Chinese Academy of Sciences, Dalian 116023, China;

2 University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China

Organoids-on-a-chip is a newly emerging and frontier field with a marriage of organoids and microfluidic organ-on-a-chip technology. The synergistic engineering strategies can be adopted to build organ model systems in high fidelity, and to hold great potential in studies of organ development, disease modeling, drug discovery and regenerative medicine. In this review, we introduce the origin, key features and recent progress of organoids-on-chips. The future opportunities and major challenges to advance organoids-on-a-chip systems are also discussed.

organoids-on-a-chip, organoid, stem cell, disease modeling, drug screening

doi: [10.1360/SSV-2022-0027](https://doi.org/10.1360/SSV-2022-0027)