

# 类器官在肺癌领域研究进展及应用探讨\*

张玉新<sup>1</sup>, 王琳璇<sup>1</sup>, 张颖<sup>1</sup>, 李娜娜<sup>1</sup>, 马祯慧<sup>1</sup>, 李梦珂<sup>1</sup>, 李洪霖<sup>2\*\*</sup>

(1. 河南中医药大学第二附属医院 郑州 450046; 2. 河南中医药大学第一附属医院 郑州 450003)

**摘要:**类器官作为近年来快速发展并被广泛关注的三维结构模型,可以使体内器官的关键功能和微环境能够在现实世界中模拟,并密切反映肿瘤自然发生和转移的生理病理特征,为疾病建模、药物研究和精准医疗提供了新的平台。本文对类器官模型的局限性及发展前景作简要综述,分析了目前肺癌类器官模型的构建和发展以及其在中医整体观念与辨证论治基本理论下较传统模型的适用性,讨论了类器官技术在肺癌治疗基础研究中的应用,在筛选抗肿瘤中药和耐药性研究及精准医疗等方面的优势,为实现中医药研究结合现代科学技术的创新突破提供新的思路。

**关键词:**类器官 肺癌 中医药 精准医疗

DOI: 10.11842/wst.20240331001 CSTR: 32150.14.wst.20240331001 中图分类号: R734.2 文献标识码: A

## 1 引言

肺癌是世界范围内常见的癌症,也是癌症相关死亡的主要原因之一,据统计,在2020年,有220万余肺癌新发病例且有超过180万病例是因肺癌离世<sup>[1-2]</sup>。对疾病生物学的不断了解,以及中医药治疗、手术、化疗、放疗、免疫治疗、靶向治疗等治疗技术的不断进步及应用,肿瘤的客观缓解率及控制率有效提高、患者的整体生存期得以延长<sup>[3]</sup>。然而,如今仍旧面临诸多挑战,如肿瘤高复发率、易转移和易产生耐药性等。因此,寻找更加准确的临床研究模型、针对性的药物应用,对于肺癌的精准治疗具有重要意义。

近年来,随着体外培养技术的不断突破,研究者对三维(Three-dimensional, 3D)培养系统(如类器官和器官芯片模型)的了解逐步加深,为应对以上挑战提供了很多机会。其中患者来源的类器官(Patient-derived organoid, PDO)作为由干细胞衍生而来的自组织三维模型,具有增殖和分化为类似于起源器官生理

结构和功能特征的能力<sup>[4-5]</sup>,以此保留机体的整体性、细胞类型的多样性和组织功能的异质性<sup>[6]</sup>,在进行个性化的疾病建模、药物预测筛选<sup>[7]</sup>及中医药的药效研究中极具潜力,为肺癌的个性化和精准化治疗开辟了新的方向。

## 2 肺癌类器官模型概述

### 2.1 肺癌类器官模型的发展与构建

人肺是由多种细胞组成的复杂呼吸器官,具有一系列特殊的生物学特征和独特的呼吸膜结构,因此与一般的3D模型相比,肺或肺肿瘤3D模型的构建更具挑战性。肿瘤类器官被认为是具有前途的模型,近年来,随着模型制造技术的提高和对肿瘤细胞所需生长因子的逐步认识,此模型可以模拟人类肿瘤微环境(Tumor microenvironment, TME)和人类免疫系统的迁移、外渗和血管生成<sup>[8]</sup>。其中肺癌类器官(Lung cancer organoid, LCO)模型研究已经从基础发展到成熟。

最近十几年中,LCO模型发展迅速,1981年,Evans

收稿日期:2024-03-31

修回日期:2024-08-26

\* 国家自然科学基金委员会青年科学基金项目(81804057):温阳散结汤通过TGF- $\beta$ 信号通路调控肿瘤相关巨噬细胞与调节性T细胞平衡抑制肺癌免疫逃逸的研究,负责人:李洪霖;河南省中医管理局河南省中医药科学研究专项课题(2022ZY2018):温阳散结方及其有效成分通过铁死亡途径调控肺腺癌上皮间质转化的机制研究,负责人:李洪霖。

\*\* 通讯作者:李洪霖(ORCID:0009-0003-9991-6499),副主任医师,硕士研究生导师,主要研究方向:中医药防治肿瘤研究。

和Kaufman等人首次开发LCO模型<sup>[9]</sup>。2018年,Dijkstra等人建立了早期LCO模型<sup>[10]</sup>。2019年, Kim等人定义了80例包含5种肺癌亚型的LCO病例,提供了代表不同肿瘤亚型复杂性和患者间异质性的样本<sup>[11]</sup>;同年阙祖俊等人通过构建符合肺癌临床实际发病特征的LCO模型进行“正虚伏毒”学术观点研究,模拟并真实展现肺癌发病的实际生理病理过程,客观评价治疗的实际效果,展现中医整体观念及重视肿瘤生长环境的优势,揭示了“正虚伏毒”病机的科学内涵,对于中医肿瘤学的发展具有积极的意义<sup>[12]</sup>。2023年,研究者从107名患者中培育出214个癌症类器官样本,其中212个是LCO,这些模型很好地反映了原始肿瘤的特征,可准确预测该队列晚期肺癌患者对治疗的临床反应<sup>[13]</sup>。可见,LCO模型考虑到肿瘤患者的独特遗传和生物学特征,显示出与原始临床标本高度的一致性<sup>[14]</sup>。这些研究可以指导临床的治疗,促进肿瘤学科的发展与成熟。

成功的类器官模型构建需要满足三个关键要素:

(1)合适的细胞来源以确保初始细胞活性和足够的细胞数量。LCO可以使用患者来源的肿瘤细胞(patient-derived cancer cell, PDCC)或胚胎干细胞(embryonic stem cell, ESC)以及对肺发育至关重要的关键细胞因子进行开发,因此肺干细胞、具有分化潜力的肺间充质干细胞(mesenchymal stem cell, MSC)和PDCC可用作建立LCO所需的主要细胞来源<sup>[15]</sup>。与人体器官类似,肿瘤器官由多种复杂的细胞类型组成,在此基础上增加了癌细胞<sup>[16]</sup>,复杂的细胞外基质和TME共同促成肿瘤的形成<sup>[17]</sup>。2023年有研究者构建214个用于生成类器官的样本,这些样本主要来源于107名患有各种亚型肺癌患者的恶性浆液积液,包括腺癌、鳞状细胞癌、小细胞肺癌、腺鳞癌、肉瘤样癌,最终成功建立的LCO仅有162个,他们提出肺腺癌和恶性浆液腔液样本更有利于成功培养,并且细胞数量不足是52个模型培养失败的常见因素之一<sup>[13]</sup>。同样, Sachs等人的研究显示,手术切除的组织 and 活检样本来源的类器官培养成功率存在显著差异。活检样本来源的非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)类器官的成功率仅为28%(5/18),而手术切除组织来源的NSCLC类器官的成功率高达88%(14/16)<sup>[18]</sup>。

(2)支持类器官3D空间结构的支架。支架的应

用是促进类器官在3D模式下生长的关键组成部分,LCO主要包埋在基质凝胶中。基质胶主要从富含胞外基质蛋白的小鼠肉瘤细胞(engelbreth-holm-swarm, EHS)中提取<sup>[19]</sup>,基质胶不仅支持类器官的空间结构,还促进其形成和分化。然而这种基质胶成分的组分定义不明确,难以将研究结果转化为临床环境<sup>[20]</sup>。目前的替代品主要为天然材料(如纤维蛋白、胶原蛋白、透明质酸)或合成材料生成的基于水凝胶的基质<sup>[21]</sup>,其中合成水凝胶因力学性能、功能性和可控的侵蚀速率受到越来越多的关注,用合成水凝胶替代基质胶在类器官培养中越来越受欢迎<sup>[22-23]</sup>。

(3)促进类器官增殖和分化的培养基。培养基是类器官成功培养的关键决定因素,就肺癌而言,常用的类器官培养基由两种主要成分组成:基础培养基成分和添加因子。基础培养基主要由4-羟乙基哌嗪乙磺酸、人类白细胞抗原B27、氮气、用于微生物污染控制的抗生素、作为氮源的L-谷氨酰胺、作为抗氧化剂和自由基清除剂的N-乙酰半胱氨酸以及参与细胞代谢能力的烟酰胺组成,并且需要依据不同的培养目的选择不同的培养基配方。有研究表明,在不同培养基中培养的癌症类器官可能对同一药物表现出不同的敏感性<sup>[24]</sup>。

LCO由基质黏合剂创建三维微环境所构建,在培养系统中添加各种维持细胞干性的营养物质,以促进细胞生长和发育。使用不同的干细胞来源及优化培养条件,如增加培养基添加剂、与其他相关细胞类型共培养,可使不同细胞类型的衍生和长期维持成为可能<sup>[25-26]</sup>。类器官的构建主要采取以下流程:癌症组织解离后,经过多道程序,包括物理切割、化学消化和过滤,将合适的肺癌样本降解为未结合的细胞和细胞簇,然后将它们悬浮在液体细胞外基质(extracellular matrix, ECM)中,再将混合的基质凝胶接种在平板上并使其凝固之后,加入特定培养基之内,培养1-2周后即可获得LCO。

## 2.2 LCO模型前沿研究分析

在肿瘤组织中,不仅存在异常增殖的肿瘤细胞,而且还存在非肿瘤细胞,包括免疫细胞、肿瘤相关成纤维细胞(Cancer-associated fibroblasts, CAF)、血管内皮细胞和其他可靶向抗肿瘤治疗的非肿瘤细胞<sup>[17,27-28]</sup>。共培养技术是将多种细胞共同培养于同一环境中,目前,类器官共培养模型主要有类器官与免疫细胞共培

养、多体系类器官共培养及类器官血管化等,主要是利用气液界面共培养、微流控芯片培养以及3D生物打印等培养方法,这些技术的发展为构建和模拟人体组织微环境及抗肿瘤免疫疗法的发展提供了新的方向。

类器官与免疫细胞共培养模型可解决传统类器官缺乏免疫细胞的问题,Dijkstra等人利用还原模拟法将NSCLC类器官与外周血单个核细胞共培养来产生肿瘤反应性T细胞<sup>[10]</sup>,生成肿瘤反应性CD8 T细胞群的成功率为33%~50%,活化的CD8 T细胞在没有正常组织类器官的情况下表现出对肿瘤类器官的有效杀伤,该模型为研究免疫疗法的敏感性或耐药性机制提供了有价值的工具。人体器官可通过血液中的分泌因子进行组织间交流,而传统类器官模型并无此功能<sup>[29]</sup>,构建多体系类器官共培养模型可解决这一问题。多体系类器官共培养可模拟多器官之间的交流,实现多组织间的协同作用,并用以研究单个器官的代谢产物对其他器官产生的影响。肿瘤血管的建立可在体内形成恶性肿瘤微环境,为肿瘤生长提供营养,促进肿瘤进展和耐药性产生<sup>[30-31]</sup>。Seitlinger等人提出了一种LCO血管化的方法,将NSCLC患者来源的肿瘤细胞与CAF相整合,以产生更复杂的模拟空间组织的肿瘤类器官<sup>[32]</sup>,随后将肿瘤类器官血管化,并使之与血管化前的纤维蛋白水凝胶相连,从而模拟肿瘤内真实的血管网络及微环境。气液培养法常用于免疫细胞参与及不同组织类器官之间的共培养,Neal等人基于气液界面共培养系统培养NSCLC类器官<sup>[33]</sup>,保留了肿瘤组织相关的内源性免疫和非免疫间质成分,维持了肿瘤微环境的原始性和功能性,并成功模拟了免疫检查点阻断,恢复了激活的肿瘤浸润性淋巴细胞的抗肿瘤活性,但缺点是这种细胞在培养基中存活不超过60天。微流控芯片能更加真实地构建和模拟体内微环境特征,并与血管内皮细胞和CAF共培养,突破类器官难以实现共培养或血管化的局限性。Nashimoto等人利用LCO芯片研究时发现,该芯片集成了可灌注血管网络,当与电化学传感平台结合使用时,可以评估给药前后LCO的氧代谢变化<sup>[34]</sup>。此外,3D生物打印是类器官血管化领域的关键技术,Choi等人提出了一种先进的血管化LCO模型,该模型由LCO、CAF和通过3D生物打印技术创建的可灌注血管网络组成<sup>[35]</sup>,该模型允许评估血管化LCO中的药物反应性。

## 2.3 中医视角下LCO的研究优势

### 2.3.1 中医药治疗肺癌的重要意义

中医药是肺癌治疗的重要手段之一,现代研究证实,多种中药成分在肺癌治疗中发挥重要作用,不但有效延缓肺癌的进展,还可以明显减轻因肺癌产生的不适症状,并减少治疗过程中耐药情况的出现。中医药的介入治疗,不仅可以帮助患者抗肿瘤治疗,还可以提高患者的自身免疫力,使得机体足以耐受西医药物的治疗<sup>[36]</sup>。因此选择合适的临床模型用于中医药治疗肺癌的相关研究是十分有意义的。

### 2.3.2 类器官模型优势分析

目前肺癌研究的临床模型主要为体外模型和体内模型,具体包括动物模型、二维(two-dimensional, 2D)细胞培养和患者来源的异种移植物(patient-derived xenograft, PDX)及LCO模型(见表1)。

目前在中医药理论指导下构建的中医药动物模型主要包括三类:疾病动物模型、中医证候动物模型和病证结合动物模型<sup>[37]</sup>。前两类模型的共性问题在于未遵循中医学辨证论治与整体观念的理论指导,割裂“辨病”与“辨证”的联系,忽略了疾病演变的过程中,一种疾病会有不同证型,同一证型也可对应不同疾病。并且,动物模型的构建需要较长的模型制造时间、较高的稳定性以及伦理考虑<sup>[38]</sup>。体外2D细胞培养模型可用于肿瘤生长分化规律、细胞的代谢及中医药细胞分子层面作用机制的研究,但是有学者研究发现体外培养过程中遗传和表观遗传畸变的积累<sup>[39]</sup>可能会对干细胞的培养和细胞类型的多样性产生负面影响<sup>[40]</sup>。PDX模型是将肿瘤组织移植至免疫缺陷型小鼠体内培养的一类模型,可更好地保留肿瘤的生长微环境,有利于维持肿瘤的结构和遗传特征<sup>[41]</sup>。但是此模型在实际应用中花费较高,并且大量的试验动物因此牺牲<sup>[42]</sup>。目前,PDX模型在相关研究中的应用仍然较少。

3D类器官模型因其培养周期短、预期获益高和个性化药物筛选的潜力而成为了一种具吸引力的选择<sup>[25-26]</sup>。此外,LCO及其扩展的生物库保留了患者肿瘤组织的真实遗传信息,可较为准确地反映人体内肿瘤的生长和发展,以可视化、客观化、精准化为特点,构建类似于体内器官组织的体外模型,体现器官功能及与周围微环境间的关系,并在维持基因组稳定性的同时,保持良好的异质性与整体性<sup>[43]</sup>,可实现体外实时

表1 抗肿瘤研究中不同模型比较

模型种类	建模方法	优点	缺点
疾病动物模型	以西医某种病理模型是中医的某证型为前提进行构建	以明确的数据指标反映建模病理变化,重复性良好	脱离中医药理论指导,模型的制作及疗效评价指标都缺乏中医药特色 <sup>[45]</sup>
中医证候动物模型	直接将“证”形成的因素施加在动物身上所构建	根据中医基础理论制作,突出中医特色,可为中医“辨证论治”提供指导	未重视中医证候理论,给实验动物施加因素后不一定能直接建造出研究者所需的证候模型 <sup>[46]</sup>
病证结合动物模型	将“病”和“证”同时或先后施加在动物身上,构建疾病与证候特征同时存在的动物模型	接近临床中病证一体的实际特点,遵循了中医的指导思想,形成“疾病+证候”的理想状态 <sup>[47]</sup>	实际模型构建中难度较大,适用性不高
2D细胞模型	在细胞培养基基础上诱导细胞恶性转化所建立	保留肿瘤细胞在形态学、遗传学的原始特征	未遵循中医整体观及个体化思想指导,忽视了肿瘤的异质性,缺乏肿瘤微环境中的复杂细胞结构 <sup>[48]</sup>
PDX	将活检获得的肿瘤组织移植到免疫缺陷小鼠体内培养	保留肿瘤原始的结构和遗传特征,并模拟类似的肿瘤微环境 <sup>[41]</sup>	较为昂贵费时,且需要大量的实验动物被牺牲 <sup>[42]</sup>
LCO	利用肿瘤组织内的肿瘤细胞,并通过三维组织培养产生	保留患者肿瘤组织的真实遗传信息、机体的整体性、组织功能的异质性	缺乏血管系统、独特的免疫微环境及细胞外基质的变化 <sup>[49]</sup>

成像、再现体内微环境、直观动态观测等功能,同时更加符合伦理要求,更佳地观测抗肿瘤药物的反应<sup>[44]</sup>。

### 2.3.3 类器官模型适用性分析

中医药以整体观念、辨证论治理论指导临床实践,中医药治疗肺癌研究的模型载体选择应符合中医理论指导。LCO模型以其优势特点在筛选抗肿瘤中药、研究耐药性及实现精准医疗等方面具有重要意义。梁乃新等在应用LCO模型研究时指出,借助LCO指导精准医学研究,是以药物作用于肿瘤细胞时具体发挥的分子机制未知的“黑箱理论”为前提,直接依据体外模型对药物的敏感度预测该药物针对患者体内肿瘤的疗效,并提出了基于类器官的肺癌治疗“黑箱”决策体系,这与中医学以整体观念和辨证论治为核心的“黑箱理论”不谋而合<sup>[50]</sup>。而且类器官模型体系,符合中药多途径、多靶点、多通路的作用特点,弥补了动物模型无法提供近来兴起的生物疗法所需的特定人类靶分子或构象<sup>[51]</sup>的不足,对明确中药作用机制有重要意义。总之,LCO在肺癌研究中的应用,不仅有效规避了动物模型试验中的结果偏差,同时解决了2D细胞模型缺乏整体性和特异性的问题,对于中医药现代化及中西医联合用药的发展有着深远的意义。

## 3 肺类器官在肺癌中的应用

### 3.1 药效评估和新药开发

类器官模型可在大规模的药物疗效评估中发挥优势作用。传统模型不能准确预测中药在人体的反

应,无法直观动态揭示中药成分作用机制、评估中药药效及毒性,在中医药治疗肺癌方面的研究具有明显的局限性。LCO可以在体外快速检测肿瘤细胞对各种药物的敏感性,并根据体外培养的模式接受药物治疗后的结果,预测不同药物对患者体内肿瘤的影响,评估药物疗效,因此类器官模型在中药疗效研究方面拥有巨大潜力。有研究表明,LCO能够在一周内产生数百个具有临床意义的药物反应,并连续加载各种合成或天然抗癌药物组合,为大规模预测抗癌药物疗效提供了一种技术上的可行性<sup>[52]</sup>。Vlachogiannis等将胃肠道肿瘤类器官库的药物评价与临床试验进行比较,结果显示类器官具有100%的敏感性、93%的特异性、100%的阴性预测值和88%的阳性预测值,证实了类器官可以准确地预测药物疗效<sup>[53]</sup>。

LCO还可用于新药的开发,2020年发表的一项研究表明,使用源自小细胞肺癌患者的肿瘤细胞构建的LCO模型开发了一种新型细胞周期蛋白依赖性激酶7(cyclin-dependent kinase 7, CDK7)抑制剂YPN-005,与CDK7抑制剂THZ1相比,该抑制剂显示出强大的抗癌作用<sup>[54]</sup>;同时,研究了LCO对各种天然化合物的潜在抗癌活性的响应,多种天然化合物如白屈菜红素、斑蝥素和汉明的抗癌活性,均表现出积极的响应。通过类器官模型研究新型抗肿瘤药物也将是未来的重要发展趋势。越来越多的研究者使用类器官来筛选潜在的抗肿瘤化合物,包括小分子、大分子多糖和抗体<sup>[55-57]</sup>。目前通过LCO进行药物筛选的研究仍处于起

表2 LCO相关研究总结

样本来源	样本类型	研究信息	应用情况	研究时间
手术切除	肺腺癌	利用原发性肺肿瘤球体在具有不同浓度厄洛替尼的基质胶中培养	厄洛替尼耐药性及联合用药研究	2020年 <sup>[60]</sup>
美国 ATCC 生物标准品资源中心	原发性肺癌,肺转移瘤,原发性恶性肺癌	利用 LCO 模型研发 CDK7 抑制剂 YPN-005	YPN-005 相关新药开发	2021年 <sup>[54]</sup>
手术切除或活检标本	肺腺癌、肺鳞癌、小细胞肺癌及其他类型肺癌	基于集成的超疏水微孔阵列芯片,进行为期一周的药物敏感性测试	高通量预测抗癌药物疗效	2021年 <sup>[52]</sup>
手术切除或经支气管活检	肺癌	常山酮抑制肺癌细胞增殖,诱导 G <sub>0</sub> /G <sub>1</sub> 期停滞,并以剂量依赖性方式促进细胞凋亡	常山酮确定为顺铂增敏剂和双途径抑制剂	2021年 <sup>[63]</sup>
手术切除	肺腺癌	研究肿瘤干细胞标志物 DCLK1 在肺腺癌 EGFR-TKI 耐药中的作用	耐药性及联合用药研究	2022年 <sup>[61]</sup>
手术切除	肺腺癌	将肺成纤维细胞添加到 NSCLC 患者的肿瘤细胞后用原代人内皮细胞对 LCO 进行血管化	模拟真实的体内环境用于药物筛选、精准医疗等	2022年 <sup>[32]</sup>
气管镜活检	肺腺癌	EGFR 突变阴性的 NSCLC 患者吉非替尼治疗有效	LCO 药敏试验指导精准医疗	2023年 <sup>[66]</sup>
人恶性浆液性积液和组织	晚期肺癌	利用受试者工作特征和基于 LCO 的化疗和靶向治疗药敏试验区临床药敏或耐药患者	LCO 药敏试验指导精准医疗	2023年 <sup>[13]</sup>

步阶段,对于治疗罕见突变基因的药物研究稀少,未来这项研究还有待发展。

### 3.2 耐药性研究

类器官可以作为研究耐药机制和开发新治疗策略的工具。治疗初期,许多患者对药物治疗的反应良好,但随着治疗的深入,最终会由于复杂的机制(如药物外排、DNA 损伤修复、抑制细胞死亡和 DNA 突变)产生耐药性<sup>[58-59]</sup>。因此,选择合适的用于体外耐药测试的肿瘤模型对于临床前药物评价至关重要。LCO 能够准确复制肿瘤的表现遗传学和组织病理学,在研究肺癌耐药性方面具有显著优势。Banda 等人在类器官培养体系中加入厄洛替尼(一种常用于肺癌治疗的表皮生长因子受体抑制剂)后,检测到至少一种已知的耐药突变(BRAF<sup>V600E</sup>, KRAS<sup>G12D</sup>, KRAS<sup>G12V</sup> 和 PIK3CA<sup>H1047R</sup>)与长期培养后的厄洛替尼耐药型肺癌相关<sup>[60]</sup>,这意味着部分厄洛替尼耐药患者需要联合治疗以解决肿瘤耐药性问题。他们还建立了针对肺腺癌类器官的厄洛替尼耐药模型,可用于模拟具有各种突变亚群的肿瘤。严睿等人证明了双皮质素样激酶 1(doublecortin-like kinase 1, DCLK1)抑制剂与表皮生长因子受体酪氨酸激酶抑制剂(epidermal growth factor receptor-tyrosine kinase inhibitor, EGFR-TKI)联合使用时在控制肿瘤生长方面具有协同作用,以及其在 EGFR-TKI 耐药的 LCO 中高表达<sup>[61]</sup>。此外,他们发现 DCLK1 抑制剂可通过下调 Wnt/ $\beta$ -连环蛋白信号通路,来逆转这种对酪氨酸激酶抑制剂(tyrosine kinase inhibitor, TKI)的

继发性耐药性。因此,对于 EGFR-TKI(如吉非替尼、厄洛替尼)耐药的肺腺癌患者, DCLK1 抑制剂可能是一种有前途的替代治疗选择。顺铂作为肺癌治疗的一线化疗药物,不可避免会导致耐药性<sup>[62]</sup>。近期,通过对顺铂耐药 LCO 模型测试发现了多种化合物可恢复化疗敏感性。例如,一种天然化合物竞争性脯氨酰-tRNA 合成酶抑制剂常山酮(halofuginone, RU-19110),可通过诱导 G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> 期阻滞并通过抑制 PI3K/AKT 和 MAPK 信号转导通路促进细胞凋亡<sup>[54,63]</sup>,这些发现可能会改善顺铂耐药肺癌患者的预后。此外,有研究表明克唑替尼(一种 ALK 抑制剂)和 GSTP1 抑制剂 ezatiostat 的组合可以调节肺癌干细胞的活性,进而对 TKI 耐药肺腺癌类器官增殖有着显著抑制作用<sup>[64]</sup>。近年来,这类针对肿瘤耐药性的联合疗法或多药疗法被研究者日益关注,对未来的抗肿瘤治疗产生深远的影响。

### 3.3 精准诊疗

近年来,个体化诊疗逐渐成为医学界研究的热点问题,中医个体化的治疗特点也被研究者们所关注。在中医治疗中个体化诊疗以中医辨证论治为载体所实现,实际上,在中医药治疗肿瘤疾病的过程中辨证论治贯彻治疗始终,但以往肿瘤治疗更多强调肿瘤体积的缩小,辨证论治这一中医特点未受到肿瘤医学界的足够重视<sup>[65]</sup>。

随着肺类器官模型的发展,中医个体化诊疗研究有了更合适的模型,这使得精准化治疗成为可能。

LCO模型能够用于识别抗肿瘤药物对癌细胞的直接影响,从而区分有效和无效的治疗,预测每个患者的可能有效药物这一优势可助力精准医疗的发展。一项真实世界的研究表明,使用来自36例肿瘤患者样本构建的54种LCO来测试类器官对奥希替尼、化疗、双靶向治疗和其他靶向治疗的敏感性,分别为86.7%(13/15)、83.3%(10/12)、100%(10/10)和70.6%(12/17)。总体敏感性为84.0%,特异性为82.8%,准确率为83.3%<sup>[13]</sup>。该试验识别抗肿瘤药物对肺癌细胞的影响,从而区分治疗是否有效。值得注意的是,对一例表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)未突变的NSCLC病例研究发现,在原发性肿瘤组织或活检衍生的类器官中均未检测到常见的EGFR突变,基因检测报告也未显示对EGFR-TKI的敏感性。然而,此患者活检衍生的类器官药物敏感试验结果显示,此患者对吉非替尼敏感,给予其吉非替尼治疗后,患者的生存率明显升高<sup>[66]</sup>。LCO相关研究总结见表2。

#### 4 LCO的不足与展望

LCO能更好地反映肿瘤的遗传背景,模拟人体器官的形态结构和生物学功能,在抗肿瘤研究及中医肿瘤学发展中发挥重要作用。然而,LCO在中医药研究中仍有不足之处。首先,类器官的本质终究是体外模型,不能代表机体连续性、动态性改变,无法体现中医肿瘤证候学中各个阶段的病机演变,与中医学的“整体观念”有本质上的区别,并且关于借助类器官研究中医药治疗肺癌的报道尚且不足,未来还需进一步发展。其次,中医学的理论核心之一是“藏象”学说,该学说的内涵是指藏于体内的具有不同生理功能和生理规律的内脏及其外现的解剖形态、生理病理征象以及与自然界相通应的事物和现象<sup>[67]</sup>,对于器官的认识与现代医学并不完全相同,有的甚至相差甚远,因而在中医学理论中LCO模型并不能完全模拟人肺的生理及病理功能。此外,仍有其不足之处,如类器官建立的成功率不稳定、类器官模型在组间的可重复性

低、建造时掺杂正常类器官而降低肿瘤类器官纯度、培养时间较长等已成为研究和应用的局限性因素。另一方面,类器官模型缺乏免疫细胞及神经、血管在内的特殊环境,难以用于评估免疫制剂的药物效果及肿瘤细胞与特殊环境之间的相互作用。

尽管仍然存在挑战,人类类器官在癌症治疗方面仍具有相当大的潜力。一直以来,由于中药有效成分及作用靶点和机理未被充分揭示,限制了中药在肿瘤治疗中的应用,但中药提取出的绝大多数化合物尚不能人工合成,因此抗肿瘤中药的研究具有一定的必要性。未来,我们可以结合中药提取物及生物制药的评价体系,利用一定规模的LCO标本库及LCO模型特点,建立高通量筛选平台<sup>[68]</sup>,筛选中药成分中具有生物药效的天然化合物,评价其在LCO中的抗癌活性,为新药研发及中药药效与作用机制提供有价值的指导。

为了攻克以上难题,我们可以从以下几点考虑:①建立并推广类器官培养、质量控制和药物检测的统一标准,探讨样本来源对模型纯度的影响,不断优化培养方法及培养基成分,进一步研究确定产生可重复类器官的决定因素。②构建大规模类器官文库或生物样本库,提高药物疗效检测的利用和药物筛选结果的可信度。将先进技术引入于LCO的培养中,研究类器官培养和药物测试的自动化方法,如微流控芯片和自动化工作站,以减少由于手动操作而导致的不稳定性。③采用包含血管系统、免疫细胞、成纤维细胞和其他成分的复杂模型来模拟肿瘤微环境对于提高体外测试的生物学意义。深入研究共培养体系、类器官芯片模型、气液界面培养、3D打印技术等前沿技术。未来,随着培养技术的不断进步,类器官模型无疑将在肺癌的药物研发、精准医疗和基础研究中发挥巨大的优势,为我们提供更多的肺癌治疗方案,给整体评价中医药的科学性提供了可能,展示出中医药治疗的广阔前景。

#### 参考文献

- 1 Thai A A, Solomon B J, Sequist L V, et al. Lung cancer. *Lancet*, 2021, 398(10299): 535-554.
- 2 Bade B C, Dela Cruz C S. Lung Cancer 2020: Epidemiology, etiology, and prevention. *clinics in chest medicine*, 2020, 41(1): 1-24.
- 3 Hirsch F R, Scagliotti G V, Mulshine J L, et al. Lung cancer: current therapies and new targeted treatments. *The Lancet*, 2017, 389(10066): 299-311.
- 4 Zhao Z X, Chen X Y, Dowbaj A M, et al. Organoids. *Nature Reviews*.

- Methods Primers*, 2022, 2: 94.
- 5 Kim J, Koo B K, Knoblich J A. Human organoids: model systems for human biology and medicine. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 2020, 21(10): 571–584.
  - 6 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(5): 1762–1772.
  - 7 Clevers H. Modeling development and disease with organoids. *Cell*, 2016, 165(7): 1586–1597.
  - 8 Li Y, Gao X, Ni C, *et al.* The application of patient-derived organoid in the research of lung cancer. *Cellular Oncology*, 2023, 46(3): 503–519.
  - 9 Evans M J, Kaufman M H. Establishment in culture of pluripotential cells from mouse embryos. *Nature*, 1981, 292(5819): 154–156.
  - 10 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(6): 1586–1598.e12.
  - 11 Kim M, Mun H, Sung C O, *et al.* Patient-derived lung cancer organoids as in vitro cancer models for therapeutic screening. *Nature Communications*, 2019, 10(1): 3991.
  - 12 阙祖俊, 罗斌, 董昌盛, 等. “正虚伏毒”肺癌研究平台的构建. *上海中医药杂志*, 2019, 53(4): 11–16.
  - 13 Wang H M, Zhang C Y, Peng K C, *et al.* Using patient-derived organoids to predict locally advanced or metastatic lung cancer tumor response: a real-world study. *Cell Reports Medicine*, 2023, 4(2): 100911.
  - 14 Li Z C, Qian Y H, Li W J, *et al.* Human lung adenocarcinoma-derived organoid models for drug screening. *iScience*, 2020, 23(8): 101411.
  - 15 Barkauskas C E, Chung M I, Fioret B, *et al.* Lung organoids: current uses and future promise. *Development*, 2017, 144(6): 986–997.
  - 16 Hellmann M D, Nathanson T, Rizvi H, *et al.* Genomic features of response to combination immunotherapy in patients with advanced non-small-cell lung cancer. *Cancer Cell*, 2018, 33(5): 843–852.e4.
  - 17 de Visser K E, Joyce J A. The evolving tumor microenvironment: From cancer initiation to metastatic outgrowth. *Cancer Cell*, 2023, 41(3): 374–403.
  - 18 Sachs N, Papanastasiou A, Zomer-van Ommen D D, *et al.* Long-term expanding human airway organoids for disease modeling. *The EMBO Journal*, 2019, 38(4): e100300.
  - 19 Kleinman H K, Martin G R. Matrigel: basement membrane matrix with biological activity. *Seminars in Cancer Biology*, 2005, 15(5): 378–386.
  - 20 Hofer M, Lutolf M P. Engineering organoids. *Nature Reviews Materials*, 2021, 6(5): 402–420.
  - 21 Gjorevski N, Sachs N, Manfrin A, *et al.* Designer matrices for intestinal stem cell and organoid culture. *Nature*, 2016, 539(7630): 560–564.
  - 22 Ma P Q, Chen Y, Lai X Y, *et al.* The translational application of hydrogel for organoid technology: challenges and future perspectives. *Macromolecular Bioscience*, 2021, 21(10): e2100191.
  - 23 Luo X B, Fong E L S, Zhu C J, *et al.* Hydrogel-based colorectal cancer organoid co-culture models. *Acta Biomaterialia*, 2021, 132: 461–472.
  - 24 Senkowski W, Gall-Mas L, Falco M M, *et al.* A platform for efficient establishment and drug-response profiling of high-grade serous ovarian cancer organoids. *Developmental Cell*, 2023, 58(12): 1106–1121.e7.
  - 25 Tuveson D, Clevers H. Cancer modeling meets human organoid technology. *Science*, 2019, 364(6444): 952–955.
  - 26 Parekh A, Das S, Das C K, *et al.* Progressing towards a human-centric approach in cancer research. *Frontiers in Oncology*, 2022, 12: 896633.
  - 27 Xiao Y, Yu D H. Tumor microenvironment as a therapeutic target in cancer. *Pharmacology & Therapeutics*, 2021, 221: 107753.
  - 28 Mantovani A, Allavena P, Marchesi F, *et al.* Macrophages as tools and targets in cancer therapy. *Nature Reviews Drug Discovery*, 2022, 21(11): 799–820.
  - 29 Priest C, Tontonoz P. Inter-organ cross-talk in metabolic syndrome. *Nature Metabolism*, 2019, 1(12): 1177–1188.
  - 30 Terrassoux L, Claux H, Bacari S, *et al.* A bloody conspiracy– blood vessels and immune cells in the tumor microenvironment. *Cancers*, 2022, 14(19): 4581.
  - 31 Patel S A, Nilsson M B, Le X N, *et al.* Molecular mechanisms and future implications of vegf/vegfr in cancer therapy. *Clinical Cancer Research*, 2023, 29(1): 30–39.
  - 32 Seiflinger J, Nounsi A, Idoux-Gillet Y, *et al.* Vascularization of patient-derived tumoroid from non-small-cell lung cancer and its microenvironment. *Biomedicine*, 2022, 10(5): 1103.
  - 33 Neal J T, Li X N, Zhu J J, *et al.* Organoid modeling of the tumor immune microenvironment. *Cell*, 2018, 175(7): 1972–1988.e16.
  - 34 Nashimoto Y, Mukomoto R, Imaizumi T, *et al.* Electrochemical sensing of oxygen metabolism for a three-dimensional cultured model with biomimetic vascular flow. *Biosensors & Bioelectronics*, 2023, 219: 114808.
  - 35 Choi Y M, Lee H, Ann M, *et al.* 3D bioprinted vascularized lung cancer organoid models with underlying disease capable of more precise drug evaluation. *Biofabrication*, 2023, 15(3): 034104.
  - 36 Zhang X W, Liu W, Jiang H L, *et al.* Chinese herbal medicine for advanced non-small-cell lung cancer: a systematic review and meta-analysis. *The American Journal of Chinese Medicine*, 2018, 46(5): 923–952.
  - 37 李磊, 刘建勋, 任钧国, 等. 中医药动物模型研究现状及展望. *中国比较医学杂志*, 2022, 32(1): 104–110.
  - 38 Perelson A S, Ribeiro R M. Introduction to modeling viral infections and immunity. *Immunological Reviews*, 2018, 285(1): 5–8.
  - 39 Tabassum D P, Polyak K. Tumorigenesis: it takes a village. *Nature Reviews Cancer*, 2015, 15(8): 473–483.
  - 40 Lee S I, Ko Y, Park J B. Evaluation of the osteogenic differentiation of gingiva-derived stem cells grown on culture plates or in stem cell spheroids: comparison of two- and three-dimensional cultures. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 2017, 14(3): 2434–2438.
  - 41 Nagle P W, Plukker J T M, Muijs C T, *et al.* Patient-derived tumor organoids for prediction of cancer treatment response. *Seminars in*

- Cancer Biology*, 2018, 53: 258–264.
- 42 Jung J, Seol H S, Chang S. The generation and application of patient-derived xenograft model for cancer research. *Cancer Research and Treatment*, 2018, 50(1): 1–10.
  - 43 Schutgens F, Clevers H. Human organoids: tools for understanding biology and treating diseases. *Annual Review of Pathology*, 2020, 15: 211–234.
  - 44 Fatehullah A, Tan S H, Barker N. Organoids as an in vitro model of human development and disease. *Nature Cell Biology*, 2016, 18(3): 246–254.
  - 45 薛丽香, 张凤珠, 孙瑞娟, 等. 我国疾病动物模型的研究现状和展望. *中国科学: 生命科学*, 2014, 44(9): 851–861.
  - 46 梁媛, 余楷杰, 巩子汉, 等. 证候动物模型研制的现状、瓶颈与发展路径探讨. *中国中医基础医学杂志*, 2023, 29(3): 385–388, 419.
  - 47 赵慧辉, 王伟. 病证结合证候模型研究基本思路. *中华中医药杂志*, 2006, 21(12): 762–764.
  - 48 Kodack D P, Farago A F, Dastur A, et al. Primary patient-derived cancer cells and their potential for personalized cancer patient care. *Cell Reports*, 2017, 21(11): 3298–3309.
  - 49 Li H H, Chen Z X, Chen N, et al. Applications of lung cancer organoids in precision medicine: from bench to bedside. *Cell Communication and Signaling*, 2023, 21(1): 350.
  - 50 贾梓淇, 梁乃新, 李单青. 类器官在肺癌精准治疗中的应用. *中国肺癌杂志*, 2020, 23(7): 615–620.
  - 51 Ingber D E. Human organs-on-chips for disease modelling, drug development and personalized medicine. *Nature Reviews Genetics*, 2022, 23(8): 467–491.
  - 52 Hu Y W, Sui X Z, Song F, et al. Lung cancer organoids analyzed on microwell arrays predict drug responses of patients within a week. *Nature Communications*, 2021, 12(1): 2581.
  - 53 Vlachogiannis G, Hedayat S, Vatsiou A, et al. Patient-derived organoids model treatment response of metastatic gastrointestinal cancers. *Science*, 2018, 359(6378): 920–926.
  - 54 Choi Y J, Lee H, Kim D S, et al. Discovery of a novel CDK7 inhibitor YPN-005 in small cell lung cancer. *European Journal of Pharmacology*, 2021, 907: 174298.
  - 55 Lu Y F, Chen Z X, Lin Q M, et al. Anti-colon cancer effects of Spirulina polysaccharide and its mechanism based on 3D models. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2023, 228: 559–569.
  - 56 Zhang K H, Ji M, Lin S W, et al. Design, synthesis, and biological evaluation of a novel photocaged pi3k inhibitor toward precise cancer treatment. *Journal of Medicinal Chemistry*, 2021, 64(11): 7331–7340.
  - 57 Herpers B, Eppink B, James M I, et al. Functional patient-derived organoid screenings identify MCLA-158 as a therapeutic EGFR × LGR5 bispecific antibody with efficacy in epithelial tumors. *Nature Cancer*, 2022, 3(4): 418–436.
  - 58 Lackner M R, Wilson T R, Settleman J. Mechanisms of acquired resistance to targeted cancer therapies. *Future Oncology*, 2012, 8(8): 999–1014.
  - 59 Ye C Y, Deng Y H, Sun W J, et al. Editorial: Recent advances of drug resistance research in colorectal cancer therapy. *Frontiers in Oncology*, 2022, 12: 1059223.
  - 60 Banda M, McKim K L, Myers M B, et al. Outgrowth of erlotinib-resistant subpopulations recapitulated in patient-derived lung tumor spheroids and organoids. *PLoS One*, 2020, 15(9): e0238862.
  - 61 Yan R, Fan X N, Xiao Z R, et al. Inhibition of DCLK1 sensitizes resistant lung adenocarcinomas to EGFR-TKI through suppression of Wnt/β-Catenin activity and cancer stemness. *Cancer Letters*, 2022, 531: 83–97.
  - 62 Galluzzi L, Senovilla L, Vitale I, et al. Molecular mechanisms of cisplatin resistance. *Oncogene*, 2012, 31(15): 1869–1883.
  - 63 Li H F, Zhang Y S, Lan X M, et al. Halofuginone sensitizes lung cancer organoids to cisplatin via suppressing PI3K/AKT and MAPK signaling pathways. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 2021, 9: 773048.
  - 64 Wang S Q, Chen J J, Jiang Y C, et al. Targeting GSTP1 as therapeutic strategy against lung adenocarcinoma stemness and resistance to tyrosine kinase inhibitors. *Advanced Science*, 2023, 10(7): e2205262.
  - 65 李杰, 林洪生, 张培彤, 等. 中医个体化治疗中晚期恶性肿瘤的病例分析. *中国中西医结合学会肿瘤专业委员会*, 2010: 4.
  - 66 Pan Y T, Cui H S, Song Y B. Organoid drug screening report for a non-small cell lung cancer patient with EGFR gene mutation negativity: a case report and review of the literature. *Frontiers in Oncology*, 2023, 13: 1109274.
  - 67 赵艳, 乔明琦, 张惠云. 藏象学说的理论基础、构建与研究方向. *山东中医药大学学报*, 2009, 33(6): 447–449, 467.
  - 68 Dekkers J F, Berkers G, Kruijselbrink E, et al. Characterizing responses to CFTR-modulating drugs using rectal organoids derived from subjects with cystic fibrosis. *Science Translational Medicine*, 2016, 8(344): 344ra84.

### Research Progress and Application of Organoids in Lung Cancer

ZHANG Yuxin<sup>1</sup>, WANG Linxuan<sup>1</sup>, ZHANG Ying<sup>1</sup>, LI Nana<sup>1</sup>, MA Zhenhui<sup>1</sup>, LI Mengke<sup>1</sup>, LI Honglin<sup>2</sup>  
 (1. The Second Affiliated Hospital of Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China; 2. The First Affiliated Hospital of Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450003, China)

**Abstract:** Organoids, as a three-dimensional structural model that has been rapidly developed and widely concerned in recent years, enable the key functions and microenvironment of internal organs to be simulated in the real world, and closely reflect the physiological and pathological characteristics of the natural occurrence and metastasis of tumors, providing a new platform for disease modeling, drug research and precision medicine. This paper briefly summarizes the limitations and development prospects of organoid models, analyzes the current construction and development of organoid models of lung cancer and its applicability compared with traditional models under the holistic concept of traditional Chinese medicine and the basic theory of syndrome differentiation and treatment, and discusses the application of organoid technology in the basic research of lung cancer treatment. The advantages in screening anti-tumor Chinese medicine and drug resistance research and precision medicine provide new ideas for realizing innovative breakthroughs in traditional Chinese medicine research combined with modern science and technology.

**Keywords:** Organoid model, lung cancer, Traditional Chinese Medicine, Precision medicine

(责任编辑: 刘玥辰)