



师长宏, 教授, 医学博士, 博士生导师, 空军军医大学(原第四军医大学)实验动物中心主任, 陕西省实验动物质量监督检测中心主任。获全国优秀科技工作者、军队育才银奖和中国实验动物学会青年人才奖。兼任中国实验动物学会常务理事、全军实验动物专业委员会副主任委员、陕西省实验动物学会副理事长。主要从事人源化动物模型研究, 重点围绕肿瘤模型的制备、影像学评估和应用等方向开展研究工作。近5年, 以第一作者或通信作者发表SCI论文10余篇, 刊于 *Cancer Cell*、*Biomaterials* 和 *Nano Research* 等期刊。先后承担国家“863”专项、军队和省重大科技项目10余项。获省科技进步二等奖和省教学成果一等奖各1项。

胃癌类器官在精准医学研究中的应用

巩淼淼^{1,2}, 周丽桂³, 赵菊梅¹, 师长宏²

(1. 延安大学医学院, 延安 716000; 2. 空军军医大学实验动物中心, 西安 710032; 3. 广州中医药大学实验动物中心, 广州 510405)

[摘要] 类器官是利用干细胞或来源于患者组织建立起来的一种体外三维培养系统。运用该培养技术, 正常胃类器官和胃癌类器官均可建立起来。类器官具有高保真性, 尤其是可保留其来源组织中的分子结构、功能特征和遗传信息等, 可用于治疗靶点筛选和药物反应预测及验证, 为胃癌精准医学研究及实验动物替代研究提供了新的思路。本文综述了目前胃癌类器官模型的建立情况, 以及类器官与精准医学的发展前景等, 为胃癌类器官应用于精准医学研究提供理想的体外模型参考。

[关键词] 胃癌; 类器官; 精准医学; 药物筛选; 个性化治疗; 替代

[中图分类号] R-332; Q95-33 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1674-5817(2022)03-0248-07

Application of Gastric Cancer Organoids in Precision Medicine Research

GONG Miaomiao^{1,2}, ZHOU Ligui³, ZHAO Jumei¹, SHI Changhong²

(1. Medical College of Yan'an University, Yan'an 716000, China; 2. Laboratory Animal Center, the Air Force Medical University, Xi'an 710032, China; 3. Laboratory Animal Center, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405, China)

Correspondence to: SHI Changhong (ORCID: 0000-0001-7490-3593), E-mail: changhong@fmmu.edu.cn;

ZHAO Jumei (ORCID: 0000-0002-7813-8224), E-mail: jmz2003.stu@163.com

[ABSTRACT] Organoid is an *in vitro* three-dimensional culture system of stem cells or tissues derived from patients. Both normal gastric organoids and gastric cancer organoids can be established through this culture technique. Organoid possesses high fidelity, it grows with the similar molecular structures, functional characteristics, and genetic information as its tissue-of-origin. According to above, organoid can perform therapeutic targets screen, facilitate drug responses prediction and verification. Meanwhile, it also provides a new idea for precision medicine research of gastric cancer and replacement research of laboratory animals. This paper reviewed the establishment of organoid model of gastric cancer and the development of application of organoid in precision medicine, to provide ideal *in vitro* models reference for precision medicine research of gastric cancer.

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目: 基于临床肿瘤标本的胃癌个体化转移模型的建立及评估(317725461004896)

[第一作者] 巩淼淼(1998—), 女, 硕士研究生, 研究方向: 类器官模型的构建与评价。E-mail: gongmiaomiaomail@163.com

[通信作者] 师长宏(1973—), 男, 博士生导师, 教授, 研究方向: 肿瘤模型的制备与评价。E-mail: changhong@fmmu.edu.cn。ORCID: 0000-0001-7490-3593

赵菊梅(1970—), 女, 硕士生导师, 教授, 研究方向: 肿瘤分子病理与药物。E-mail: jmz2003.stu@163.com。ORCID: 0000-0002-7813-8224

[Key words] Gastric cancer; Organoid; Precision medicine; Drug screening; Individualized treatment; Replacement

胃癌 (gastric cancer) 在全球癌症发病率中位居第五, 是全球第四大癌症死亡原因^[1]。我国胃癌的发病率较高, 占全球胃癌患者总数的44.21%, 且患者从发病到死亡所损失的全部健康寿命年即伤残调整生命年 (disability adjusted life year, DALYs) 从1990年到2019年增加了19.11%^[1-2]。目前胃癌的治疗方式主要包括手术和药物治疗, 不幸的是大多数患者都会出现耐药反应。

在过去的几十年里, 研究人员在大量抗癌药物的筛选和临床前药物研发过程中采用到多种重要的模型^[3-6], 例如二维 (2D) 标准细胞系模型、胃癌肿瘤发生的基因工程小鼠模型 (genetically engineered mouse models, GEMM)、人源肿瘤细胞系移植模型 (cell derived xenograft, CDX) 和人源肿瘤组织异种移植模型 (patient derived xenograft, PDX), 这些模型尽管在胃癌发病机制和药物研究中发挥了一定的作用, 然而因其均不能很好地表达肿瘤相关遗传背景和异质性, 导致大多数药物在临床研究中都失败^[7-8], 研究结果的临床应用价值有限。

近年来, 患者来源肿瘤类器官 (patient-derived organoid, PDO) 因更接近其来源组织的生理结构, 保留来源组织的特定功能, 并且可以得到与临床患者更加相似的药物反应, 因此进入研究人员的视野。大量研究表明, PDO模型可以有效评估癌症患者的特异性反应^[9-12], 同时与患者个体化治疗的结果有很高的相似性^[13]。由此可见, PDO模型可作为临床前药物筛选的理想模型, 替代繁琐的动物体内实验研究, 这对胃癌患者的个性化治疗和精准医学研究有着重要的意义。

1 胃癌类器官模型建立情况

1.1 胃癌类器官模型的发展概况

胃类器官大多通过成人胃干细胞扩增和人功能干细胞 (pluripotent stem cells, PSCs) 的定向分化来建立。首例胃类器官是在2010年利用多功能干细胞建立的^[14], 之后人类开始尝试利用患者来源的组织建立胃癌类器官^[10]。有研究者报告, 胃癌类器官建立成功率在50%~74%^[15-16]。也有报告, 胃癌患者大多都会做食道、胃、十二指肠镜检查 (esophagogastroduodenoscopy, EGD), 从而可以利用活检组织建立充足的胃癌

类器官^[17]。研究已证实, 胃癌类器官的建立率在组织病理学亚型之间没有显著差异^[16]。

2020年日本研究者先建立起10例来源于患者的胃癌类器官, 从中选取了对5-氟尿嘧啶相对敏感的4例^[18], 接着不断对建立起来的胃癌类器官用不同浓度的5-氟尿嘧啶进行处理, 成功建立起对5-氟尿嘧啶有耐药性的类器官模型, 发现*KHDRBS3*与药物治疗的耐药性有关。Loryn等^[19]为了研究幽门螺杆菌诱导胃上皮细胞程序性死亡配体1 (programmed death ligand-1, PD-L1) 表达的机制, 将患者来源的类器官和自体免疫细胞共培养, 建立了一个体外模型来研究胃上皮细胞和T淋巴细胞之间的相互作用以应对感染, 发现感染幽门螺杆菌的胃上皮高表达PD-L1, 并抑制细胞毒性T淋巴细胞的增殖, 这表明感染了表达PD-L1的幽门螺杆菌的胃上皮细胞受到保护, 进而免除了免疫反应的影响, 导致癌前病变发展为胃癌。Dani等^[20]发现, Troy⁺细胞是一种完全分化的细胞, 具有充当多能干细胞的能力, 同时证明了单个Troy⁺主细胞可以形成胃类器官。有研究者用Troy作标志物来验证胃癌类器官^[21], 结果表明可以通过检测Troy来确定是否为胃癌类器官。

除此之外, 胃癌转移性标本的类器官模型也被建立起来。例如Georgios等^[9]建立了来自参与I/II期临床试验的新鲜活组织检查的转移性胃肠癌患者的PDO生物库, 并通过识别类器官中的基因型-药物表型相关性, 将这些癌症类器官的药物反应与实际患者的反应进行了比较, 证明类器官模型可预测转移性胃肠癌患者对治疗的反应。李杰等^[22]建立了胃癌恶性腹腔积液衍生类器官 (malignant ascites derived organoid, MADO) 的集合, 成功率为92%, 而且经过传代, 其形态和基因组没有任何变化, 可以对常规化疗药物的多药耐药性进行筛选。

1.2 胃癌类器官模型的组织学特征和分子分型

胃癌分类方法大体有两种。一种是组织形态学分类系统: 按照通用的Lauren分类法, 将胃癌分为肠型胃癌和弥漫型胃癌两种组织学亚型^[23]; 另外世界卫生组织还提出另一种组织分类方法, 将胃癌分为乳头状癌、管状癌、黏液癌 (胶体癌) 和低黏附性癌^[24]。虽然组织形态学分类系统在临床上具有通用性和广泛的

应用,但不足以反映胃癌的分子和遗传特征,也不足以在精确医学时代制定个性化的治疗策略。另一种是分子分类系统,通过基因组技术和高通量分析进一步对胃癌进行分类。2014年TCGA研究网络组将胃癌分为4种遗传亚型:EB病毒(epstein-barr virus, EBV)阳性型、微卫星不稳定(microsatellite instability, MSI)型、染色体不稳定(chromosomal instability, CIN)型和基因组稳定(genome stable, GS)型^[25]。大多数肠道和弥漫性胃癌的组织学亚型分别属于CIN和GS亚型^[25],这种分型是目前应用最多的分子分型。

依据胃癌的组织学特征和TCGA分类的分子分型可建立比较精准的胃癌类器官。例如,Therese等^[10]建立了20种人胃癌类器官,选择了4种进行全面分析,使用全基因组测序对类器官与胃癌分子亚型进行了相匹配,其中1例与GS亚型相匹配,1例与CIN亚型相匹配,2例与MSI亚型相匹配。按照分子分型建立起类器官后可进行一系列基因层面的研究,这将有助于推动胃癌精准医学和个性化治疗的研究^[10, 15, 26]。

1.3 胃癌类器官的优点和不足

胃癌PDO模型与传统细胞系、CDX、PDX、GEMM相比较,具有显著的优势(表1)。胃癌PDO一般3d左右可进行一次传代^[10],与动物模型相比,可以快速地高通量筛选^[15]。由于PDO直接来源于患者,与传统细胞系相比,具有很高的临床相关性,并用于个性化治疗^[13];在基因编辑方面,PDO同样可以满足^[27]。但类器官大多数以上皮细胞为主,缺少研究上皮细胞和非上皮细胞之间持续的相互作用,与动物模型相比,在肿瘤微环境相关研究中存在劣势(表1);但这一局限性正在通过培养方法的改变来改善,例如将人工生长因子梯度作用于类器官^[28]、免疫细胞共培养方法^[19]和气液界面交换法^[29]。总之,类器官模型在肿瘤研究中具有广阔的应用前景。

2 胃癌类器官在精准医学研究中的应用

目前,尽管已经广泛开展针对癌症患者基因型特征的精准医学研究,用于促进癌症治疗并改善患者预后^[30]。然而,由于人类肿瘤细胞的分子异质性和可塑性,基于基因型的癌症治疗预测并不明确,这为个性化精准医学研究提出了新的挑战。随着类器官模型的药物试验成功,为个性化精准医学这一问题的解决提供了新的手段。比如,可以先建立胃癌类器官模型,然后对肿瘤组织进行分类分型,可利用基因测序技术

表1 不同胃癌模型的比较

Table 1 Comparison of different models of gastric cancer

特点 Characteristic	CL	CDX	PDX	GEMM	PDO
周期 Period	+++	++	++	+	+++
基因编辑 Genome editing	+++	+++	-	+++	+++
高通量筛选 High throughput screening	+++	-	-	-	+++
价格 Price	+++	++	++	+	++
临床相关性 Clinical interrelation	-	++	+++	++	+++
肿瘤微环境 Tumor microenvironment	-	++	++	+++	+
个性化治疗 Individualized treatment	-	+	++	+	+++

注:CL指细胞系;CDX指人源肿瘤细胞系移植模型;PDX指人源肿瘤组织异种移植模型;GEMM指基因工程小鼠;PDO指肿瘤人源类器官。最合适(+++),合适(++),可以实现(+),不合适(-)。Note:CL refers to cell line;CDX refers to cell derived xenograft;PDX refers to patient derived xenograft;GEMM stands for genetically engineered mouse models;PDO refers to patient-derived organoid. Most suitable(+++), suitable(++), can achieve(+), not suitable(-)

获得驱动基因,之后再类器官对关键驱动基因的捕获找到相关靶点,通过肿瘤药物资料库对药物进行筛选和预测,也可与成簇的规律间隔的短回文重复序列(clustered regularly interspaced short palindromic repeats, CRISPR)/CRISPR相关蛋白核酸酶9(CRISPR-associated nuclease 9, Cas9)技术、幽门螺杆菌感染相结合,最后进行匹配,找到个性化治疗策略。总之,将基因组数据与患者肿瘤样本的药物筛选相结合,可确定针对不同患者的个体化治疗方案(图1)。

2.1 研究生态位因子对胃癌产生的影响

胃癌类器官的培养离不开干细胞“生态位(Niche)因子”的特殊组合,即Wnt激活剂(Wnt-3A和R-spondin)、受体酪氨酸激酶配体[表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)和成纤维细胞生长因子(fibroblast growth factor, FGF)10]、骨形态发生蛋白(bone morphogenetic protein, BMP)抑制剂(Noggin)和转化生长因子-β(transforming growth factor beta, TGF-β)抑制剂(A83-01)^[14, 31]。研究生态位因子对胃癌产生的影响时,类器官模型无疑是一种好的选择。

Nanki等^[16]利用胃癌患者组织细胞建立类器官生物标本库来研究胃癌的发生发展分子机制,利用CRISPR-Cas9技术对类器官进行基因编辑,再通过生

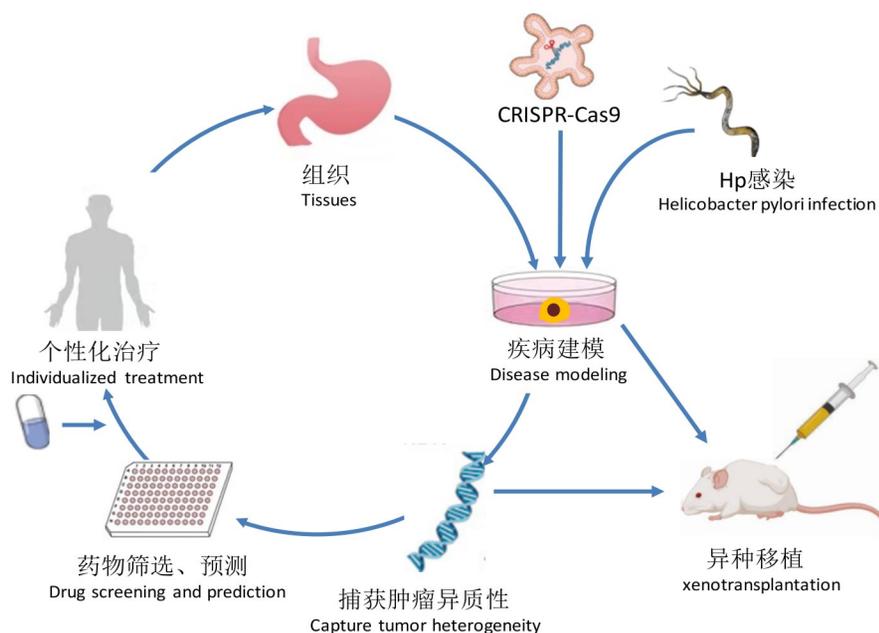


图1 类器官在精准医学研究中的应用策略

Figure 1 Application strategy of organoid in precision medicine research

态位因子依赖与基因突变来进一步研究胃癌中的基因型-表型相关性。将建立的胃癌类器官分为EGF依赖, EGF非依赖以及EGFR抑制剂抵抗等, 发现*ERBB3*或*PTEN*突变的胃癌类器官依赖于生长因子EGF和FGF, 但*ERBB2*和*ERBB3*扩增的胃癌类器官不再依赖EGF和FGF。同时发现了肿瘤激活Wnt通路的多种途径, 之后通过胃癌类器官的异种移植进一步确定了Wnt靶向治疗Wnt依赖性胃癌的可行性^[16]。

2.2 探索胃癌发生的关键驱动基因

目前关于胃癌具体的发病机制仍不明确, 需要对其进行多方面的探索, 也有研究者通过建立捕获关键驱动基因的模型对其机制进行研究。例如, 香港大学研究者建立了一个原发性胃癌类器官生物标本库, 包括17个正常胃类器官和46个胃癌类器官^[15]。分析了大多数已知的分子亚型, 包含EBV、MSI、肠型/CIN和弥漫型/GS, 具有*CLDN18-ARHGAP6*或*CTNND1-ARHGAP26*融合或*RHOA*突变, 并获取了胃癌的异质性和遗传特征。此外, 该团队也通过类器官进行了药物敏感性的测试。

此外, 胃癌类器官与关键驱动基因相结合, 可以进一步推动精准医学的研究。Lincoln等^[32]发现胃癌原发肿瘤*FGF*受体2 (FGF receptor 2, *FGFR2*) 基因扩增, 但转移瘤并不表现*FGFR2*扩增, 而是具有TGF- β 受体2 (TGF- β receptor 2, *TGFBR2*) 独特双等位基因

的改变; 之后在体细胞*CDH1*和*TP53*突变的类器官背景下, 将类器官中的*TGFBR2*敲低, 发现类器官中存在发育异常且具有侵袭性; 同时进行体内实验以验证*TGFBR2*是否有潜在转移, 结果表明*TGFBR2*是弥漫型胃癌的驱动突变基因, 解决了寻找弥漫性胃癌转移的遗传驱动因素的问题。以上研究均表明, 类器官可以通过不同的方法对胃癌机制进行探索, 并找到相应的靶点为下一步研究提供帮助。

2.3 揭示幽门螺杆菌感染在胃癌发生中的作用

幽门螺杆菌感染是导致胃癌发生的首要独立危险因素^[33]。关于幽门螺杆菌的模型在体内体外均有研究, 其中类器官模型是近期最受关注的模型之一^[34]。相关研究表明, 类器官为评估癌细胞与癌相关成纤维细胞^[35]或病原体^[36-37]的共培养系统提供了一种理想的方法。将幽门螺杆菌感染的人胃类器官与宿主免疫细胞共培养, 发现感染了表达PD-L1的幽门螺杆菌的细胞受到保护, 可能会免受免疫反应的影响^[19]。

研究表明, 类器官模型在研究幽门螺杆菌和胃癌的发生发展机制中发挥着重要作用。有研究者在幽门螺杆菌感染的胃类器官中观察到NF- κ B信号的强烈激活和胃上皮细胞增殖的增强, 这是幽门螺杆菌感染的标志, 从而验证了在传统细胞培养中幽门螺杆菌感染的潜在机制^[31, 38-39]。也有研究者将3D原代类器官培养物通过球体剪切的方法, 接种到胶原涂层孔中转化

成2D培养物,利用3D类器官作为无限细胞源,在2D培养物中能够概括幽门螺杆菌的主要特征和发病机制,包括“蜂鸟”-表型、细胞空泡化和CagA磷酸化。相比于3D培养物,转化为2D培养物更容易处理,并可以提供可靠的感染条件^[36]。但目前这些方法大多用于基础研究,相信随着类器官技术的成熟,将来可用于疾病阶段的诊断和药物筛选,为个性化治疗应用提供帮助。

2.4 高通量药物筛选

类器官是预测药物疗效和药物发现的新型工具,适用于高通量药物筛选。肿瘤类器官已经作为药物发现的临床前癌症模型,在预测胃癌患者靶向治疗效果方面有着巨大的潜力^[40]。目前针对类器官进行的研究大多数都是基于形态学、荧光读数或基于ATP的细胞活力的测定。肿瘤类器官的药物筛选方案一般是将肿瘤类器官种植在384孔板或96孔板中并用药物处理3~6 d,然后根据CellTiter-Glo[®]测试类器官的活性^[41]。Therese等^[10]将胃癌类器官暴露于5-氟尿嘧啶、奥沙利铂、伊立替康、多西他赛和表柔比星,并记录了每种药物的不同反应,发现显示*ERBB2*基因扩增的1例PDO仅在高浓度时对5-氟尿嘧啶显示出反应,且对除伊立替康以外的大多数应用药物显示出抗性;该研究还建立了代表人类胃癌典型特征和改变途径的人和小鼠癌症类器官,证明了类器官在测试个体患者的治疗反应和耐药性方面具有潜在用途。

此外,也可创建胃癌转移的相关类器官模型进行药物筛选。Georgios等^[9]用转移性癌症类器官进行了药物筛选,用I-III期临床试验或临床实践中的55种药物库进行了为期两周的筛选分析,结果验证了使用来自转移性癌症的PDO作为药物筛选工具的可行性。李杰等^[22]用恶性腹腔积液肿瘤细胞建立了11个胃癌转移的MADO(恶性腹腔积液是晚期胃癌常见的常见症状),用奥沙利铂、5-氟尿嘧啶、顺铂、多西他赛、伊立替康、表柔比星和紫杉醇对MADO进行药物筛选,每种药物以6个不同浓度对MADO进行作用,测试药物的半数抑制浓度,判断药物的敏感性。结果显示,对于胃癌恶性腹腔积液和胃癌转移性疾病都能成功地用类器官进行药物筛选。用类器官进行体外药物实验将缩短药物研究的成本,能够个性化筛选有效的药物。

2.5 替代动物体内实验预测胃癌患者的临床反应和预后

体外类器官的药物敏感性或耐药性测试是否可以

真正代表患者的结果,需要将临床前模型中的药物反应与患者的实际反应进行比较。在2019年发表的一项研究中,首次在I/II期临床试验中招募转移性结肠癌和胃食管癌患者,对他们建立相应的PDO生物库,研究证明类器官在个性化医疗中的预测价值^[9]。这为利用类器官开展胃癌患者药物敏感性测试提供了依据。

Georgios等^[9]用类器官在21例胃癌患者的临床反应中测试了它们的临床预测价值,比较了紫杉醇敏感的胃癌患者治疗前后建立的连续类器官与两名紫杉醇耐药的肝转移胃癌患者的类器官对紫杉醇的反应,从紫杉醇浓度和细胞周期中分析,发现耐药性类器官和紫杉醇难治性类器官表现出相同的剂量反应曲线,紫杉醇治疗后出现显著的细胞凋亡,与临床观察到的结果一致。最终得出类器官预测患者对靶向药物或化疗的反应敏感性为100%,特异性为93%,阳性预测值为88%,阴性预测值为100%^[9]。胃癌类器官可帮助预测患者对靶向治疗(如*HER2*抑制)的反应,每个类器官可帮助确定患者对哪种药物有效或耐药,甚至对可能引起不良反应或几乎没有治疗反应的药物进行预测^[13]。

以上结果说明,胃癌类器官可以通过化疗药物的反应来预测患者的预后情况,也可以预测靶向治疗效果。类器官值得在癌症患者的前瞻性临床试验中进一步评估,更好地预测化疗药物和靶向治疗的成功或失败,从而进一步开发潜在的药物。

2.6 实现胃癌患者的个性化治疗

每个胃癌患者对相同的治疗方案可能有不同的疗效,对每种化疗药的耐药程度也不相同。随着个性化治疗被提出,开发个性化治疗需要捕捉肿瘤遗传异质性的特点^[13]。由于类器官具有高保真性和快速建模的特征,胃癌类器官在预测患者的药物敏感性方面显示出很高的临床效用,患者组织来源的类器官模型有助于胃肠癌的个性化治疗^[42-43]。有研究者把患者来源的类器官直接接种在96孔板上培养,并在患者手术后3 d内对类器官进行药物测试,依据结果在手术后5~6 d内告知临床医生预先的治疗方案是否可行^[13]。这说明来源于患者的类器官有助于个性化治疗的深入研究。

目前有研究者正在对一项人体临床试验(OPPOSITE试验:NCT03429816^[44])进行评估,用患者来源的胃癌建立类器官,患者与体外建立的类器官将接受相同的新辅助全身治疗,体外细胞毒性与体内反应相关;该研究预计将在2022年完成,目前结

果尚不清楚, 预计可形成从寻找肿瘤驱动基因到靶向药物, 再到个性化治疗的匹配模式。未来胃癌个性化医疗将与临床紧密结合, 可测试各种药物并预测晚期胃癌个体患者的最佳治疗方案。

3 展望

胃癌类器官可预测药物对患者是否有效, 避免抗癌药物的盲目使用, 减少不良反应, 提高治疗效果。每个疑似胃癌的患者几乎都会接受EGD活检, 因此可以从活检中创建类器官生物样本库来丰富人类生物材料, 为胃癌的个性化治疗提供有效的实验工具^[17]。随着类器官模型培养技术的不断完善, 有可能替代动物模型在肿瘤研究中发挥重要作用。未来可通过胃癌分子分型和组织表型相结合, 精确预测患者的预后, 并制定个体化治疗方案, 即通过规范性、个体化的手术治疗联合放化疗、靶向治疗和免疫治疗, 进一步改善胃癌的治疗效果, 提高胃癌患者治愈率, 使更多的胃癌患者获益。

尽管如此, 胃癌类器官模型用于精准化治疗仍存在一定的局限性: (1) 目前建立的胃癌类器官模型中EBV亚型比较少见, 大部分没有检测到这种亚型阳性^[10], 少数研究者报告建立的胃癌类器官又可以捕捉到这一亚型^[15]; 也有研究者表明在胃类器官中EBV亚型不能表达, 而在胃癌类器官中可以表达^[45]。这可能说明EBV亚型在胃癌类器官表达中存在一定的不确定性, 还需要进一步研究确认。(2) 胃癌患者组织来源获取的细胞量不稳定, 这可能与肿瘤组织的状态和新鲜程度有很大关系, 如何获取最大量的细胞并在基质胶内保留最大活性仍需要进一步探索。随着实验技术的不断改进和相关研究的不断探索, 相信类器官一定在胃癌临床应用研究中发挥重要作用。

[作者贡献 Author Contribution]

巩淼淼负责文献查阅和整理, 以及文章撰写与修改; 周丽桂负责部分文献资料查阅及讨论; 赵菊梅提供文章整体内容的修改建议; 师长宏对全文内容进行修改指导。

[利益声明 Declaration of interest]

所有作者均声明本文不存在利益冲突。

[参考文献 References]

- BRAY F, FERLAY J, SOERJOMATARAM I, et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA: A Cancer J Clin, 2018, 68(6):394-424. DOI:10.3322/caac.21492.
- HE Y, WANG Y, LUAN F, et al. Chinese and global burdens of gastric cancer from 1990 to 2019[J]. Cancer Med, 2021, 10(10): 3461-3473. DOI:10.1002/cam4.3892.
- KERSTEN K, DE VISSER K E, VAN MILTENBURG M H, et al. Genetically engineered mouse models in oncology research and cancer medicine[J]. EMBO Mol Med, 2017, 9(2):137-153. DOI:10.15252/emmm.201606857.
- KIM J, KOO B K, KNOBLICH J A. Human organoids: model systems for human biology and medicine[J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2020, 21(10):571-584. DOI:10.1038/s41580-020-0259-3.
- RISBRIDGER G P, LAWRENCE M G, TAYLOR R A. PDX: moving beyond drug screening to versatile models for research discovery[J]. J Endocr Soc, 2020, 4(11): bvaa132. DOI: 10.1210/jendso/bvaa132.
- CORRÒ C, NOVELLASDEMUNT L, LI V S W. A brief history of organoids[J]. Am J Physiol Cell Physiol, 2020, 319(1): C151-C165. DOI:10.1152/ajpcell.00120.2020.
- KAMB A. What's wrong with our cancer models?[J]. Nat Rev Drug Discov, 2005, 4(2):161-165. DOI:10.1038/nrd1635.
- CAPONIGRO G, SELLERS W R. Advances in the preclinical testing of cancer therapeutic hypotheses[J]. Nat Rev Drug Discov, 2011, 10(3):179-187. DOI:10.1038/nrd3385.
- VLACHOGIANNIS G, HEDAYAT S, VATSIOU A, et al. Patient-derived organoids model treatment response of metastatic gastrointestinal cancers[J]. Science, 2018, 359(6378):920-926. DOI:10.1126/science.aao2774.
- SEIDLITZ T, MERKER S R, ROTHE A, et al. Human gastric cancer modelling using organoids[J]. Gut, 2019, 68(2):207-217. DOI:10.1136/gutjnl-2017-314549.
- JABS J, ZICKGRAF F M, PARK J, et al. Screening drug effects in patient-derived cancer cells links organoid responses to genome alterations[J]. Mol Syst Biol, 2017, 13(11): 955. DOI: 10.15252/msb.20177697.
- ABBASI J. Patient-derived organoids predict cancer treatment response[J]. JAMA, 2018, 319(14):1427. DOI:10.1001/jama.2018.3760.
- STEELE N G, CHAKRABARTI J, WANG J, et al. An organoid-based preclinical model of human gastric cancer[J]. Cell Mol Gastroenterol Hepatol, 2019, 7(1): 161-184. DOI: 10.1016/j.jcmgh.2018.09.008.
- BARKER N, HUCH M, KUJALA P, et al. Lgr5(+ve) stem cells drive self-renewal in the stomach and build long-lived gastric units *in vitro*[J]. Cell Stem Cell, 2010, 6(1):25-36. DOI:10.1016/j.stem.2009.11.013.
- 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[J]. Cell Stem Cell, 2018, 23(6): 882-897. e11. DOI: 10.1016/j.stem.2018.09.016.
- NANKI K, TOSHIMITSU K, TAKANO A, et al. Divergent routes toward wnt and R-spondin niche independency during human gastric carcinogenesis[J]. Cell, 2018, 174(4): 856-869. e17. DOI:10.1016/j.cell.2018.07.027.
- GAO M, LIN M, RAO M, et al. Development of patient-derived gastric cancer organoids from endoscopic biopsies and surgical tissues[J]. Ann Surg Oncol, 2018, 25(9): 2767-2775. DOI:10.1245/s10434-018-6662-8.

- [18] UKAI S, HONMA R, SAKAMOTO N, et al. Molecular biological analysis of 5-FU-resistant gastric cancer organoids; KHDRBS₃ contributes to the attainment of features of cancer stem cell [J]. *Oncogene*, 2020, 39(50): 7265-7278. DOI: 10.1038/s41388-020-01492-9.
- [19] HOLOKAI L, CHAKRABARTI J, BRODA T, et al. Increased programmed death-ligand 1 is an early epithelial cell response to *Helicobacter pylori* infection[J]. *PLoS Pathog*, 2019, 15(1): e1007468. DOI:10.1371/journal.ppat.1007468.
- [20] STANGE D E, KOO B K, HUCH M, et al. Differentiated Troy+ chief cells act as reserve stem cells to generate all lineages of the stomach epithelium[J]. *Cell*, 2013, 155(2):357-368. DOI: 10.1016/j.cell.2013.09.008.
- [21] XIAO X, CHEN W, WEI Z W, et al. The anti-tumor effect of nab-paclitaxel proven by patient-derived organoids[J]. *Onco Targets Ther*, 2020, 13:6017-6025. DOI:10.2147/ott.s237431.
- [22] LI J, XU H, ZHANG L, et al. Malignant ascites-derived organoid (MADO) cultures for gastric cancer *in vitro* modelling and drug screening[J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2019, 145(11):2637-2647. DOI:10.1007/s00432-019-03004-z.
- [23] LAUREN P. The two histological main types of gastric carcinoma: diffuse and so-called intestinal-type carcinoma. an attempt at a histo-clinical classification[J]. *Acta Pathol Microbiol Scand*, 1965, 64:31-49. DOI:10.1111/apm.1965.64.1.31.
- [24] BOSMAN F T, CARNEIRO F, HRUBAN R H, et al. WHO classification of tumours of the digestive system[M]. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer Press, 2010.
- [25] CANCER GENOME ATLAS RESEARCH NETWORK. Comprehensive molecular characterization of gastric adenocarcinoma[J]. *Nature*, 2014, 513(7517): 202-209. DOI: 10.1038/nature13480.
- [26] WANG K, YUEN S T, XU J, et al. Whole-genome sequencing and comprehensive molecular profiling identify new driver mutations in gastric cancer[J]. *Nat Genet*, 2014, 46(6): 573-582. DOI:10.1038/ng.2983.
- [27] LO Y H, KOLAH K, DU Y, et al. A CRISPR/Cas9-engineered *ARID1A*-deficient human gastric cancer organoid model reveals essential and non-essential modes of oncogenic transformation[J]. *Cancer Discov*, 2021, 11(6):1562-1581. DOI: 10.1158/2159-8290.CD-20-1109.
- [28] 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[J]. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol*, 2018, 5(2): 113-130. DOI: 10.1016/j.jcmgh.2017.10.007.
- [29] WANG X, YAMAMOTO Y, WILSON L H, et al. Cloning and variation of ground state intestinal stem cells[J]. *Nature*, 2015, 522(7555):173-178. DOI:10.1038/nature14484.
- [30] NAKAGAWA H, FUJITA M. Whole genome sequencing analysis for cancer genomics and precision medicine[J]. *Cancer Sci*, 2018, 109(3):513-522. DOI:10.1111/cas.13505.
- [31] 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[J]. *Gastroenterology*, 2015, 148(1):126-136.e6. DOI:10.1053/j.gastro.2014.09.042.
- [32] NADAULD L D, GARCIA S, NATSOULIS G, et al. Metastatic tumor evolution and organoid modeling implicate TGFBR2 as a cancer driver in diffuse gastric cancer[J]. *Genome Biol*, 2014, 15(8):1-18. DOI:10.1186/s13059-014-0428-9.
- [33] GRAHAM D Y. *Helicobacter pylori* update: gastric cancer, reliable therapy, and possible benefits[J]. *Gastroenterology*, 2015, 148(4):719-31.e3. DOI:10.1053/j.gastro.2015.01.040.
- [34] BURKITT M D, DUCKWORTH C A, WILLIAMS J M, et al. *Helicobacter pylori*-induced gastric pathology: insights from *in vivo* and *ex vivo* models[J]. *Dis Model Mech*, 2017, 10(2):89-104. DOI:10.1242/dmm.027649.
- [35] ÖHLUND D, HANDLY-SANTANA A, BIFFI G, et al. Distinct populations of inflammatory fibroblasts and myofibroblasts in pancreatic cancer[J]. *J Exp Med*, 2017, 214(3):579-596. DOI: 10.1084/jem.20162024.
- [36] SCHLAERMANN P, TOELLE B, BERGER H, et al. A novel human gastric primary cell culture system for modelling *Helicobacter pylori* infection *in vitro*[J]. *Gut*, 2016, 65(2):202-213. DOI:10.1136/gutjnl-2014-307949.
- [37] SCANU T, SPAAPEN R M, BAKKER J M, et al. *Salmonella* manipulation of host signaling pathways provokes cellular transformation associated with gallbladder carcinoma[J]. *Cell Host Microbe*, 2015, 17(6):763-774. DOI:10.1016/j.chom. 2015. 05.002.
- [38] MCCRACKEN K W, CATÁ E M, CRAWFORD C M, et al. Modelling human development and disease in pluripotent stem-cell-derived gastric organoids[J]. *Nature*, 2014, 516(7531): 400-404. DOI:10.1038/nature13863.
- [39] SCHUMACHER M A, FENG R, AIHARA E, et al. *Helicobacter pylori*-induced sonic hedgehog expression is regulated by NFκB pathway activation: the use of a novel *in vitro* model to study epithelial response to infection[J]. *Helicobacter*, 2015, 20(1):19-28. DOI:10.1111/hel.12152.
- [40] WEEBER F, OOFT S N, DIJKSTRA K K, et al. Tumor organoids as a pre-clinical cancer model for drug discovery[J]. *Cell Chem Biol*, 2017, 24(9): 1092-1100. DOI: 10.1016/j.chembiol. 2017.06.012.
- [41] FRANCIES H E, BARTHORPE A, MCLAREN-DOUGLAS A, et al. Drug sensitivity assays of human cancer organoid cultures [J]. *Methods Mol Biol*, 2019, 1576:339-351. DOI:10.1007/7651_2016_10.
- [42] ABERLE M R, BURKHART R A, TIRIAC H, et al. Patient-derived organoid models help define personalized management of gastrointestinal cancer[J]. *Br J Surg*, 2018, 105(2):e48-e60. DOI: 10.1002/bjs.10726.
- [43] DROST J, CLEVERS H. Organoids in cancer research[J]. *Nat Rev Cancer*, 2018, 18(7): 407-418. DOI: 10.1038/s41568-018-0007-6.
- [44] HAAG G M. OPPOSITE: Outcome prediction of systemic treatment in esophagogastric carcinoma (OPPOSITE) [EB/OL]. [2019-02-18]. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03429816>.
- [45] WALLASCHEK N, REUTER S, SILKENAT S, et al. Ephrin receptor A2, the epithelial receptor for Epstein-Barr virus entry, is not available for efficient infection in human gastric organoids[J]. *PLoS Pathog*, 2021, 17(2): e1009210. DOI:10.1371/journal.ppat.1009210.

(收稿日期: 2021-10-14 修回日期: 2022-01-12)

(本文编辑: 富群华, 张俊彦, 郭嘉欣)