

· 综 述 ·

消化系统类器官研究进展

刘鸿渊^{1#}, 王若帆^{1#}, 李绪隆¹, 吴正阳¹, 孙金丽², 陆唯怡², 王贤丽^{2*}

1 上海交通大学医学院, 上海 200025

2 上海交通大学公共卫生学院, 上海 200025

刘鸿渊, 王若帆, 李绪隆, 吴正阳, 孙金丽, 陆唯怡, 王贤丽. 消化系统类器官研究进展[J]. 生物工程学报, 2023, 39(4): 1332-1350.

LIU Hongyuan, WANG Ruofan, LI Xulong, WU Zhengyang, SUN Jinli, LU Weiyi, WANG Xianli. Advances in organoids of the digestive system[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2023, 39(4): 1332-1350.

摘 要: 类器官是一种近年来新发展的细胞三维培养系统。类器官与真实器官的三维结构相似, 并具有自我更新和再现组织来源等特点, 从而能够更好地模拟真实器官的功能。类器官为研究器官发生、再生、疾病发病机制以及药物筛选提供了一个崭新的研究和应用平台。消化系统在人体内发挥着重要功能, 目前已成功建立多种消化器官的类器官模型。本文就近年来味蕾、食管、胃、肝和小肠类器官的研究进展及相关应用进行综述, 并对这几种类器官的应用前景进行展望。

关键词: 类器官; 消化系统; 疾病模型; 药物筛选; 再生医学

Advances in organoids of the digestive system

LIU Hongyuan^{1#}, WANG Ruofan^{1#}, LI Xulong¹, WU Zhengyang¹, SUN Jinli², LU Weiyi², WANG Xianli^{2*}

1 School of Medicine, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200025, China

2 School of Public Health, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200025, China

Abstract: Organoid is a newly developed cellular three-dimensional culture system in recent years. Organoids have a three-dimensional structure, which is similar to that of the real organs. Together with the characteristics of self-renewal and reproduction of tissue origin, organoids can better simulate the function of real organs. Organoids provide a new platform for the study of organogenesis, regeneration, disease pathogenesis, and drug screening. The digestive system

资助项目: 上海交通大学医学院第十六期“大学生创新训练计划”

This work was supported by the Shanghai Jiao Tong University School of Medicine 16th College Students' Innovative Training Program.

[#]These authors contributed equally to this work.

*Corresponding author. E-mail: wangxianli@shsmu.edu.cn

Received: 2022-07-14; Accepted: 2022-10-17; Published online: 2022-10-31

is an essential part of the human body and performs important functions. To date, organoid models of various digestive organs have been successfully established. This review summarizes the latest research progress of organoids of taste buds, esophagi, stomachs, livers and intestines, and prospects future application of organoids.

Keywords: organoid; digestive system; disease model; drug screening; regenerative medicine

类器官是一种由多能干细胞(pluripotent stem cell, PSC)或组织成体干细胞(adult stem cell, ASC)发育而来,并与体内器官具有相似结构和功能的复杂的三维结构^[1]。类器官在形成过程中能够模拟真实器官发育的两个关键事件:细胞分序(cell sorting out)与空间特异性的谱系分化(spatially restricted lineage commitment)^[2],因此类器官含有不同的细胞分化类型,从而能够更好地模拟真实器官的功能。消化系统在人体内参与营养物质吸收、代谢、排泄等重要生理功能。以小鼠为代表的动物模型曾被普遍认为是消化系统良好的研究模型,但这类模型与人类的消化系统在结构和功能上的显著差异,限制了这类模型的临床转化能力。自 Clevers 实验室成功建立首个小肠类器官^[3]以来,类器官技术获得了长足的发展,多名学者在小肠类器官培养方法的基础上,陆续建立了其他消化器官的类器官。相较于动物模型,消化器官的类器官能够更为准确地模拟人体器官的发生、发育以及疾病的发展过程^[3],因此具有广阔的研究和应用价值。

目前,体外获得类器官的方法有2种,一种是直接使用ASC进行3D培养,另外一种是通过诱导PSC分化为对应的器官干/祖细胞再进行培养。ASC来源广泛,可以从患病组织中获得并培养成患者来源的类器官(patient-derived organoid, PDO)。PDO具有与患者组织相似的遗传特征,在消化系统药物筛选和精准个性化治疗等领域具有巨大的应用潜力。此外, PDO也为肠道囊性纤维化^[4]等罕见疾病解决了有效研究

模型缺乏的难题。PSC可以分为胚胎干细胞(embryonic stem cell, ESC)和诱导多能干细胞(induced pluripotent stem cell, iPSC)。PSC来源的消化道类器官模拟了器官发育的原始过程,其结构分化更接近于胎儿阶段的组织。这一特性有助于研究新生儿消化道系统疾病,例如利用类器官的微生物感染模型研究该类疾病的发病机制及药物筛选。

本文在2016年 Hans Clevers 对消化系统类器官进行系统总结^[5]的基础上,就最近几年味蕾、食管、胃、肝和小肠的ASC或PSC来源的类器官的研究进展进行了回顾,并讨论了这几种消化器官的类器官在疾病建模、药物筛选和再生医学等领域的应用前景和挑战。

1 味蕾类器官

1.1 味蕾类器官的建立

味蕾是位于口腔上皮的感受器官,包含I型神经胶质支持细胞、感受甜苦和鲜味的II型细胞以及感受酸味的III型细胞等味觉受体细胞^[6]。2014年, Ren等^[7]首先利用单个Lgr5⁺味觉干细胞生成了味蕾类器官,该类器官含有感受味觉刺激的成熟的味觉细胞。目前味蕾类器官主要使用来自舌环状乳头组织的Lgr5⁺味觉干细胞,通过Matrigel基质胶包埋的方式体外培养获得^[8]。最近, Adpaikar等^[9]提出了一种悬浮培养味蕾类器官的方法。该方法去除了传统的细胞外基质支架,悬浮培养的类器官能够逆转味蕾类器官顶端与基底端的极性,从而增强了味觉细胞从外部环

境获得味觉剂的能力。在味蕾类器官生长和分化的过程中, Notch、Wnt、音猬因子(sonic hedgehog, SHH)、骨形成蛋白(bone morphogenetic protein, BMP)等信号通路发挥了重要作用, Wnt 与 SHH 信号能够相互作用并促进味觉细胞的分化, 而 Notch 与 BMP 信号则会抑制味觉细胞的分化。在味蕾类器官发育的过程中, Wnt 和 SHH 信号通路被激活, 而 BMPs 和 Notch 信号通路被抑制^[10], 从而调控味觉细胞的分化。此外, R-spondin 在味蕾类器官产生分化的味觉细胞的过程中发挥了不可或缺的作用。Lin 等^[11]研究发现 R-spondin 在膝状神经节的神经细胞中高表达, 缺乏 R-spondin 的味蕾类器官不具有味觉感知的功能, 而外源性 R-spondin 的补充能够在去神经的味蕾类器官中恢复味觉感知的功能。进一步研究发现, R-spondin-Lgr4/5/6-Rnf43/Znrf3 轴通过促进味觉干/祖细胞的分化诱导味觉细胞的产生。虽然味蕾类器官的建立方法在不断地改进, 但是截至目前, 味蕾类器官培养体系中缺少与其相互作用的味蕾微环境, 可能阻碍了味蕾类器官在功能上对真实味蕾器官更进一步地模拟^[6]。未来味蕾类器官的发展方向可能是加入神经元和脉管系统与类器官共培养, 从而能够更准确地模拟味蕾器官的功能。

1.2 味蕾类器官的研究应用

目前, 味蕾类器官的应用研究较少, 但仍不影响其为味觉相关疾病提供全新的研究平台。头颈部放疗能够引起味蕾损伤, 导致味觉障碍, 而目前对于这类损伤并没有有效的治疗方法^[12]。2019年, Feng 等^[13]发现脂多糖(lipopolysaccharides, LPS)能够诱导味蕾类器官的炎症反应, 导致肿瘤坏死因子和白细胞介素-6 (interleukin 6, IL-6)等炎症因子的表达增加。2022年, Wu 等^[14]发现 LPS 能够诱导味蕾味觉神经元基因 *iNOS* 表达的增加。*iNOS* 是 NF- κ B 通路的下游基因, 其表达增加可诱导产生大量的一氧化氮, 而一氧化氮能

够增加味蕾对于咸味、苦味和酸味的负向应答, 从而产生味觉障碍。该研究结果提示 *iNOS* 和一氧化氮可能在味蕾炎症反应中发挥了重要作用, 为后续味蕾炎症提供新的研究方向。

除了疾病建模以外, 味蕾类器官在再生医学领域也有相关报道。2022年, Adpaikar 等^[9]将悬浮培养的味蕾类器官移植入小鼠舌外侧上皮组织下方, 检测味蕾类器官移植入味蕾上皮的可行性。该研究所移植的类器官仅含有上皮细胞, 不含肌层细胞, 因此与舌上皮整合后能够维持神经支配和味觉功能, 从而取得了良好的移植效果。该研究表明味蕾类器官能够作为潜在的味蕾组织来源, 在味蕾的再生医学研究中具有重要应用价值。目前味蕾类器官的应用研究仍处于起步阶段, 而且主要以小鼠味蕾类器官的研究为主, 未来期待在人源味蕾类器官的建立和应用研究等方面取得进展和突破。

2 食管类器官

2.1 食管类器官的建立

食管是消化道中连接咽与胃的重要组成部分。小鼠在食管解剖结构上与人类食管存在显著差异: 小鼠的食管上皮仅有单层基底细胞层, 上层角质化; 而人类食管上皮则有数层基底细胞, 上层无角质化^[15], 因此, 小鼠等动物模型不能作为研究人类食管功能及相关疾病的有效工具。相比之下, 人源食管类器官更贴近于人类食管, 是一种较为理想的 3D 替代模型。Kasagi 等^[16]使用人食管细胞系 EPC2-hTERT 成功培养出食管类器官, 该类器官能够重现食管上皮的自然分化过程。该研究同时发现 Notch 信号通路能够促进食管上皮的分化, 抑制该信号通路会导致上皮分化受损。Kasagi 等^[16]同时建立了利用内镜获取人类食管组织建立类器官的方法, 该方法具有很高的成功率。近两年有学者建立了新的基

于患者食管组织来源的类器官的培养方法。Karakasheva 等^[17]将诊断性活检或微创手术获得的组织样本进行酶解(分散酶和胰蛋白酶),再将分离的细胞埋入 Matrigel 基质胶中形成单细胞悬浮液进行 3D 培养。该方法建立了标准化的食管类器官的培养方案,能供其他科研工作者参考和应用。由 PSC 建立的食管类器官较组织来源食管类器官更贴近人体组织结构。Zhang 等^[18]将来自 RUES2 细胞系的胚胎干细胞在多种生长因子[包括激活素 A (activin A)、成纤维细胞生长因子 2 (fibroblast growth factor 2, FGF-2)、BMP4 和 Rho 激酶抑制剂 Y-27632]的作用下分化为内胚层,随后通过抑制 BMP、转化生长因子 β (transforming growth factor- β , TGF- β)、Wnt 等信号通路进一步分化为前部前肠,随后将得到的食管祖细胞培养成食管类器官^[18]。Trisno 等^[19]通过依次调节 BMP、Wnt 和视黄酸等信号通路得到食管祖细胞,建立了另一种从 PSC 建立食管类器官的方法。该研究同时发现较短时间激活 Wnt 和视黄酸信号能够促进前肠向食管的方向发育,并且抑制 BMP 信号可促进基因 *Sox2* 表达,同样起到促进食管类器官生成的作用。

2.2 食管类器官的研究应用

2.2.1 食管类器官与疾病建模

作为模拟食管结构和功能的有效工具,食管类器官近年来已广泛用于食管炎症和食管癌等方面的研究。Nakagawa 等^[20]利用患者食管组织来源的类器官建立嗜酸性粒细胞性食管炎类器官模型。研究发现嗜酸性粒细胞性食管炎引起基底细胞增生,外源性重组细胞因子(如 IL-13)能够诱导类器官模拟嗜酸性粒细胞性食管炎的炎症反应。该研究表明嗜酸性粒细胞性食管炎类器官模型能够通过诱导炎症反应模拟该疾病的发生、发展机制,从而寻找并制定可能的治疗方案。

随着肿瘤组织来源类器官培养技术的成熟,

多个食道类器官的癌症模型已建立成功。肿瘤组织来源的食管类器官与肿瘤组织具有高度的相似性,也保留了肿瘤的异质性,食管类器官为肿瘤患者提供了精准的治疗方案。食管鳞状细胞癌(esophageal squamous cell carcinoma, ESCC)是亚洲最主要的食管癌亚型,占全世界食管癌确诊病例的 40%^[21]。Kijima 等^[22]建立了患者来源的 ESCC 类器官的培养方法,该方法建立的类器官可由嵌入基底膜基质中的单细胞悬浮液快速形成,用时仅需 14 d,而成功率约为 60%。他们还使用了 5-氟尿嘧啶离体处理这些类器官,发现高 CD44 表达的癌细胞可能是引起肿瘤耐药性的原因。巴雷特食管(Barrett esophagus, BE)被认为是食管腺癌(esophageal adenocarcinoma, EAC)的一种癌前病变,而 EAC 是一种预后不佳的癌症类型,其发病率在西方国家快速上升^[23]。2011 年, Sato 等^[24]首次利用来自 BE 的活检组织生成了食管上皮类器官,开启了这类疾病的类器官的研究。食管肿瘤的细胞来源一直具有争论,现有的研究不能确定 EAC 是否由 BE 转化而来,因为有一半的 EAC 患者在诊断时没有发生 BE 化生。2021 年, Nowicki-Osuch 等^[25]利用食管上皮类器官发现 BE 起源于胃贲门,由 c-MYC 和肝细胞核因子 4 α (hepatocyte nuclear factor 4 alpha, HNF4 α) 驱动, EAC 由 BE 样的上皮化生转化产生,此发现填补了之前的研究空白,凸显了食管类器官模拟食管的重要性。Kunze 等^[26]研究了 Notch 信号通路与 BE 杯状细胞之间的关系,结果表明激活 Notch 信号通路可引起 BE 杯状细胞密度降低,该过程与核因子 κ B (nuclear factor kappa-B, NF- κ B) 的激活密切相关。Notch 是肿瘤发生过程中重要的信号通路,该研究结果为将来 EAC 的预防提供思路。基因编辑与类器官技术的结合拓展了类器官研究疾病发生的应用。Liu 等^[27]使用 CRISPR/Cas9 技术研究了 Wnt 信号通路在 BE 相

关肿瘤转化中的作用。该研究发现与野生型 BE 类器官相比, 激活 Wnt 信号通路导致 BE 类器官增殖和复制能力增加、细胞凋亡减少。

目前食管类器官主要应用在食管癌的相关研究中, 其他疾病的研究较少。由于食管肿瘤的细胞来源尚未明确, 大多数研究侧重寻找肿瘤发生的机制, 这可能是影响食管类器官应用于其他疾病的重要原因。众多研究已证明了食管类器官在模拟肿瘤发生发展、肿瘤药物筛选等方面的重要应用价值, 未来期待食管类器官应用于其他食管疾病的研究中。

2.2.2 食管类器官与再生医学

目前, 食管闭锁、食管狭窄、食管癌等疾病可以通过食管切除术进行治疗, 但是术后往往要使用远端胃肠道填补失去的食管, 为患者带来诸多生活不便和新的疾病问题。食管的结构相对简单, 这一特性使得再生医学应用于食管修复的门槛较低。食管类器官单元^[28]是一种通过在 Matrigel 基质胶中接种分离的食管细胞, 并与神经肌肉细胞共培养而产生的类器官系统。这种类器官具有从基底样细胞到成熟鳞状细胞的上皮分化的梯度, 并且可以自发蠕动。2014 年, Spurrier 等^[28]使用食管类器官单元与组织工程支架结合, 食管祖细胞首先在体外培养, 然后在体内形成组织工程食管, 从而发挥再生作用。这项研究证明了食管类器官可以作为食管再生医学的细胞来源。未来食管类器官可以尝试与 3D 生物打印技术结合, 产生更多的再生医学的应用方式。

3 胃类器官

3.1 胃类器官的建立

胃是消化管重要的组成器官之一, 幽门螺杆菌感染是常见的胃部疾病, 能够引起炎症乃至癌症病变。长期以来, 该领域一直缺乏这类感染性疾病的合适的研究模型, 胃类器官的成功建立为

研究这类疾病提供了一个全新的平台。胃类器官通常来源于幽门 Lgr5⁺干细胞以及 Troy⁺胃主细胞, 通过调节 Wnt-3A、R-spondin、表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)、FGF-10、Noggin 和 A83-01 (TGF- β 抑制剂)等因子建立体外 3D 培养物^[29]。2014 年, Schumacher 等^[30]利用将永生化胃间充质细胞与胃上皮干细胞共培养的方法, 获得包括主细胞、壁细胞在内的各类胃上皮细胞的胃类器官, 该胃类器官可用于胃上皮细胞的损伤修复等功能的研究。目前, ASC 来源的胃类器官的培养方案已相对成熟, 同时, PSC 来源的胃类器官也陆续被报道。2014 年, McCracken 等^[31]将人 ESC 与 iPSC 在体外定向分化, 成功建立了胃类器官。该胃类器官依赖于 FGF、Wnt、BMP、视黄酸和 EGF 等信号通路的调控。该研究首先利用 BMP 激活 Wnt 和 FGF 促进前肠的发生; 随后将视黄酸加入 3D 培养物, 诱导后部前肠发育为 Sox2/Pdx1 阳性胃窦上皮, 最后利用高浓度的 EGF 诱导胃上皮向胃类器官发生。RNA 测序分析表明, 该方法建立的胃类器官与人胎儿胃组织具有高度相似的转录表达图谱, 能够模拟胎儿胃组织的功能^[31]。

由于类器官空腔缺乏贯通, 消化管道的类器官不能有效模拟真正器官的功能^[32]。腔内结构与功能的研究目前仍然滞后, 为了克服这一难题, Schlaermann 等^[32]将 3D 人源胃类器官种植到涂有胶原的空腔玻璃上形成 2D 上皮单层, 在此基础上建立了幽门螺杆菌感染的 2D 类器官模型。他们利用该模型观察到了幽门螺杆菌细胞毒素相关基因 A 蛋白(CagA)磷酸化、细胞空泡化等在 3D 模型中难以看到的细胞表型。2D 类器官的发展得益于类器官芯片技术。类器官芯片是一种近年来新出现的体外培养模型, 该模型以微流控技术为基础, 能够在体外模拟人体器官的主要结构和功能(图 1)^[33-34]。2018 年, Lee 等^[34]开

发了胃类器官芯片平台,并利用该平台开展胃生理学、疾病机制和药物筛选等研究。2021年,Cherne等^[35]在肠道类器官流动芯片的基础上,首次将人类树突状细胞与胃上皮细胞以类器官的形式整合到微流控芯片上,建立了首个实时研究免疫-上皮细胞相互作用的胃类器官平台。在以往的研究中,白细胞与类器官共同培养时缺乏合适的细胞外基质,而该研究解决了这一难题。目前,虽然胃类器官芯片技术仍处于发展阶段,

但该技术突破了原有类器官缺少中空局限,未来可能成为个性化治疗研究的又一有效工具。

3.2 胃类器官的研究应用

3.2.1 胃类器官与疾病建模

啮齿动物和胃癌细胞系是研究幽门螺杆菌感染的常用模型,但这两种模型均有缺陷:小鼠模型只能表现出轻度炎症,无法发展为胃溃疡与胃癌^[36];胃癌细胞系通常含有突变的致癌基因,且无法自我更新^[37]。胃类器官能够充分模拟胃

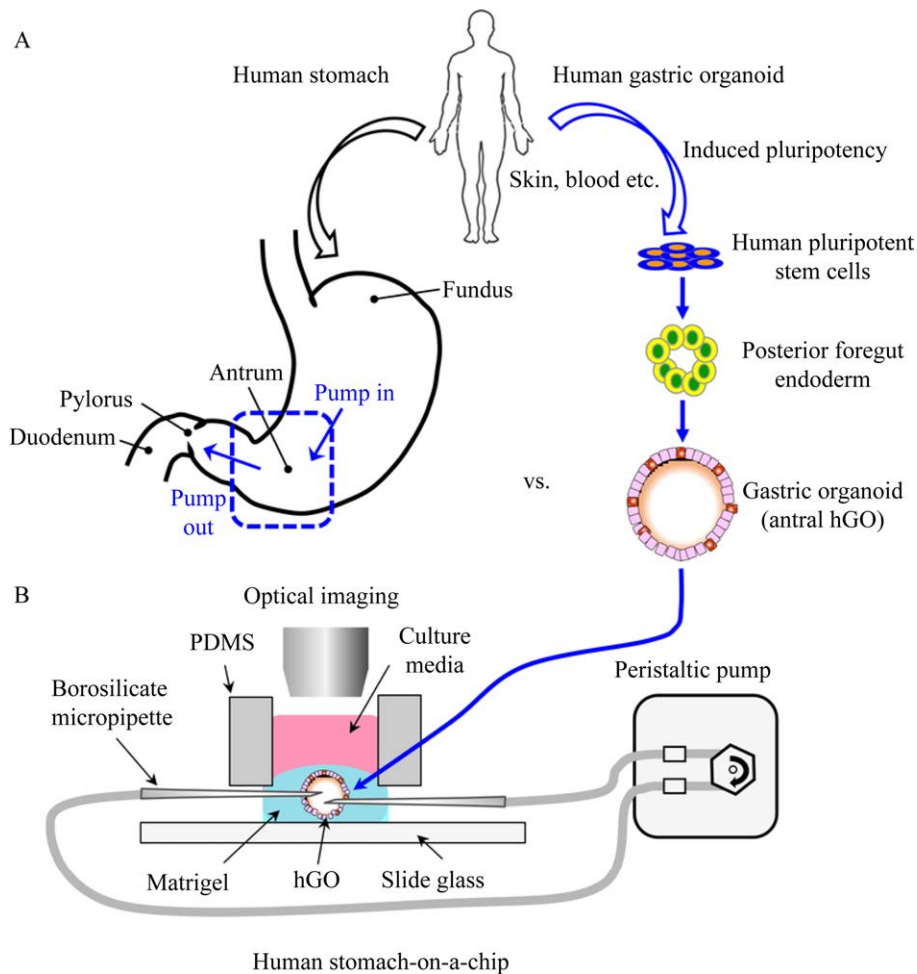


图1 胃类器官芯片示意图^[34] A: 通过人源PSC分化得到的胃与胃窦类器官的过程对比. B: 在芯片上蠕动的胃类器官产生管腔流的实验装置示意图

Figure 1 Schematic overview of the proposed biomimetic human stomach-on-a-chip platform^[34]. A: Human stomach versus antral hGO derived via differentiation of hPSCs. B: Schematic diagram of the experimental setup for the generation of luminal flow in peristaltic stomach-on-a-chip.

的组织结构,在幽门螺杆菌感染和胃癌发病机制等相关研究中发挥重要作用。McCracken 等^[31]将幽门螺杆菌直接显微注射到类器官的上皮腔中,观察胃对幽门螺杆菌感染的病理生理反应。该研究发现 CagA 能够侵入类器官上皮细胞并与 c-Met 受体结合,揭示了 CagA 在幽门螺杆菌感染中的重要作用。胃肠胰神经内分泌肿瘤(gastrointestinal pancreatic neuroendocrine neoplasms, GEP-NEN)为一罕见病,因为缺少足够的临床样本,相关的研究十分困难、滞后,类器官是突破罕见病研究瓶颈的有效方法。Kawasaki 等^[38]建立了包括 25 个患者胃组织来源的 GEP-NEN 类器官库,并进行了全基因组测序等研究。这项研究揭示了该疾病具有频繁的 *RBI* 突变和严重的染色体畸变,并发现这些变化与腺癌类器官的基因突变和遗传特征相似。该研究同时利用 CRISPR-Cas9 技术敲除正常胃类器官的基因 *TP53* 和 *RBI*,建立了符合 GEP-NEN 遗传学的类器官模型^[38],用于开展相关疾病机制的研究。综上所述,胃类器官为胃部疾病提供了更有效的研究模型,将会成为胃疾病研究的重要工具。

3.2.2 胃肿瘤类器官与药物筛选

胃癌是一类具有多种组织学特征和分子亚型的疾病,模拟特异的疾病发生发展过程、寻找疾病发生机制需要研究模型对相应特征进行特异表达。2018 年, Nanki 等^[39]应用 CRISPR/Cas9 技术建立了包含多种突变的胃癌类器官,他们同时建立了 37 个患者来源的胃癌类器官,构建了一个大型的胃癌类器官样本库。该样本库能够研究遗传背景的改变与组织病理学变化之间的关系,为胃癌建模、药物筛选以及个性化治疗提供了平台。Yan 等^[40]也建立了一个来源于 34 名患者的胃癌类器官的生物样本库,在精心挑选样本后,该样本库涵盖了几乎所有已知的分子亚型和

特异性突变谱。Yan 等^[40]进行了详细的全外显子组和转录组分析,提供了详细的肿瘤基因组数据。此外他们还开展了大规模的药物筛选,发现肿瘤类器官对纳帕布卡星、阿贝西利和共济失调毛细血管扩张及 Rad3 相关激酶(ataxia-telangiectasia mutated and rad3-related protein kinase, ATR)抑制剂 VE-822 等抗肿瘤药物敏感。化疗目前仍然是治疗胃癌的主要方法之一,但是在肿瘤治疗中出现的耐药和不良反应等问题一直没有解决。Ouyang 等^[41]开发了一种选择性的信号转导及转录激活因子 3 (signal transducer and activator of transcription 3, STAT3)抑制剂 W1131,并在胃癌类器官中进行测试该抑制剂的效果。研究发现 W1131 能够通过抑制 STAT3 来降低肿瘤细胞对于 5-氟尿嘧啶的耐药性。Zou 等^[42]则将目光投向了具有较少不良反应的纳米制剂,他们在来源于患者活检组织的胃癌类器官中比较两种紫杉醇纳米制剂的疗效。他们发现两种纳米制剂均具有对抗肿瘤的作用,其中脂质体紫杉醇相较于白蛋白结合紫杉醇对肿瘤细胞具有更强的杀伤作用。该研究表明 PDO 是评估纳米制剂药物的非常好的一个平台,未来期待更多的此类药物在类器官平台中进行检测。

3.2.3 胃类器官与再生医学

胃的结构较食管等消化道更为复杂,生成与真正的胃完全一致的人工再生胃存在一定难度。Grikscheit 等^[43]利用大鼠的全层胃开发出胃类器官单位,随后将类器官单位装在生物降解组织支架上,植入大鼠腹部。研究结果表明这种组织工程胃具有出天然胃的组织学特征,并行使一定的胃功能。Maemura 等^[44]在此工作的基础上进行了改进,他们在腹部植入组织工程胃后,将胃与食管和空肠吻合,从而使组织工程胃发挥正常胃的功能。该研究结果表明组织工程胃具有完整的黏膜和平滑肌层,口服钡剂可以正常通过胃

进入小肠。虽然组织工程胃在动物中取得了进展,但距离应用于人体还有一定的距离。胃的结构复杂,再生医学前景仍不明确,未来需要更多新的技术促进胃再生医学的研究。

4 肝脏类器官

4.1 肝脏类器官的建立

肝脏是人体内最大的消化腺器官,承担了合成、代谢和解毒等多种功能。类器官技术可以构建肝脏的立体模型,从而模拟真实肝脏的结构和功能。2013年,Takebe等^[45]在体外诱导iPSC分化成具有2D结构的肝细胞样细胞,并将此细胞与间充质干细胞和脐带细胞共培养,最终成功产生了胚胎肝芽类器官。该类器官移植到免疫缺陷小鼠后,能够血管化并发育成具有成熟肝脏特征的肝组织。自此,肝脏类器官模型的建立方法不断被更新。2018年,Vyas等^[46]使用肝脏细胞外基质制成的支架培养肝脏类器官,一定程度上重现了胎儿肝脏包括肝脏代谢、分泌功能以及胆管结构形成的肝胆分化过程。2019年,Mun等^[47]在培养肝脏类器官时加入了毛喉素和bFGF,前者是环腺苷酸(cyclic adenylic acid, cAMP)的诱导剂,可增加R-spondin受体的表达,进而增强Wnt信号通路依赖的肝干细胞标志物Lgr5的表达;而bFGF通过替代心脏中胚层信号影响肝祖细胞的分化,增强类器官自我增殖与分化的潜能,并使肝脏类器官显示出成熟肝脏的特性。肝脏类器官也可以来源于成体肝脏干细胞。Lgr5⁺肝干细胞经损伤诱导后可通过Wnt信号通路形成3D结构,具有长期扩增和体外分化为功能性肝细胞样细胞的能力^[48]。2014年,Huch等^[49]在培养肝脏类器官时加入了TGF- β 受体抑制剂A8301。该研究发现在TGF- β 靶基因下调后,类器官的培养时间延长。因此,肝脏类器官的长期培养需要激活TGF- β 信号通路。2018年,Nusse

和Clevers团队^[50-51]将原代小鼠肝细胞进行长期培养,培养形成的类器官能再现肝细胞的众多形态和功能特性。Nusse等^[50]使用R-spondin和FGF生长因子诱导产生肝脏类器官,其表达特性与部分肝切除后的肝细胞相似。Clevers等^[51]利用类器官建立的肝脏损伤模型发现,在肝损伤期间,肝内巨噬细胞能够分泌高水平的炎性细胞因子如肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor alpha, TNF- α)来帮助肝脏类器官的再生。

4.2 肝脏类器官的研究应用

4.2.1 肝脏类器官与疾病建模

肝脏易受药物、饮食、病毒等因素影响,出现肝炎、肝硬化等肝损伤,严重者可导致肝癌。目前常用的动物模型与细胞模型难以模拟肝脏内部复杂的微环境,缺乏肝脏特有的各类酶系。肝脏类器官能够克服传统模型的缺点,因此已经应用于疾病建模的多个研究中,为多种疾病提供了新的研究平台。由单基因突变引起的肝病在新生儿中的发病率为1%,其中 α -1-抗胰蛋白酶(α -1-antitrypsin, AAT)缺乏症可对肝实质造成影响。错误折叠的AAT蛋白能够高聚并在肝细胞中积累,从而增加肝细胞损伤和患肝病的风险^[52]。目前肝脏类器官已经应用于这类单基因肝病的研究中。2020年,Gómez-Mariano等^[52]使用AAT缺乏症患者的组织样本建立了肝脏类器官,该研究在体外成功复制了疾病发生中产生蛋白聚集体的过程。此外,该研究还通过RNA测序发现肝细胞具有特异的基因表达谱,后续将开展药物筛选等工作。原发性肝癌(primary liver cancer, PLC)是全球第二大致命恶性肿瘤,PLC包括几种具有不同组织学特征并且预后不良的异质肿瘤:肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)、胆管癌(cholangiocarcinoma, CC)和肝细胞胆管癌联合亚型(mixed hepatocellular- cholangiocarcinoma, HCC-CC)。传统的2D细胞培养和小鼠模型对PLC

的还原度较差,无法准确模拟人体内部环境的变化。人源肿瘤异种移植技术(patient-derived xenograft, PDX)能够再现原始肿瘤的遗传和组织学特征,是潜在的替代模型,但PDX高昂的经济与时间成本无法满足临床的普遍需求^[53]。因此,肝癌类器官成为了研究PLC的有效手段。2017年,Broutier等^[54]利用8名PLC患者的肿瘤切除物成功建立了原发性肝肿瘤类器官。同一时间,Nuciforo等^[55]从HCC患者的穿刺活检物中提取细胞并建立了肝肿瘤类器官模型。这些类器官培养物能够长期增殖,并保留了患者肿瘤组织的结构、基因表达模式和遗传特征,为个性化治疗及药物筛选提供了更精准的研究工具。目前,肝癌类器官受到培养条件和样本数量的制约,一些类型的癌症还不能建立类器官模型,未来需要进一步优化培养条件,从而生成包含更多细胞类型同时更易培养的肝脏类器官模型。

4.2.2 肝脏肿瘤类器官与药物筛选

肝脏肿瘤类器官为肿瘤药物的筛选研究提供了新的模式。Nuciforo等^[55]利用肝癌类器官测试了肝癌化疗药物索拉非尼的敏感性,他们发现索拉非尼能降低肿瘤类器官细胞的活性,并且具有剂量相关性。该结果表明肿瘤PDO可针对患者测试化疗药物的特异性与敏感性。2019年,Cao等^[56]诱导小鼠肝脏类器官形成肿瘤模型,并评估了肝脏类器官肿瘤模型对抗癌药物的反应。该研究使用了129个肝脏与肝癌样本,结果显示索拉非尼与瑞格菲尼对于肝癌类器官具有很好的抑制作用。由于培养人肝内胆管癌类器官较为困难,Bai等^[57]利用小鼠类器官和2D人肿瘤细胞筛选肝内胆管癌的抗肿瘤药物。研究发现联合使用桉木醇与哌柏西利具有较强的抗肝内胆管癌作用,后续研究将对这两种药物的治疗效果进行进一步验证。

4.2.3 肝脏类器官与再生医学

肝脏疾病如果持续恶化,将会走向肝衰竭。

目前,原位肝移植是治疗终末肝功能衰竭的唯一有效的方法。但由于供体数量有限,肝移植不能解决大多数肝脏衰竭患者的需求。肝脏类器官的扩增和分化潜能使其成为潜在的肝脏移植的替代来源。2014年,Huch等^[49]将胆管衍生的类器官作为供体细胞移植进入*Fah*^{-/-}突变小鼠体内,结果发现移植显著增加小鼠的存活率。同时,Huch等^[49]将人胆管衍生的类器官移植到小鼠体内后也获得了类似的结果。2018年,Hu等^[51]使用原代肝细胞建立了第二代肝脏类器官,在TNF- α 的作用下具有更强的扩增能力,同时表现出更高的植入能力。虽然类器官移植能够改善肝脏功能,但是移植到更复杂的临床环境(例如以炎症和纤维化为特征的慢性肝损伤)时,类器官是否依然能保持其增殖和植入的能力,还需要进一步研究。

5 小肠类器官

5.1 小肠类器官的建立

肠道是人体消化道最长的部分,发挥吸收和排泄的功能。Sato等^[3]在2009年首次培养出小肠干细胞的三维结构,并将其上皮细胞培养物称为小肠类器官,从此开启了各种器官的类器官技术的研究。小肠类器官可以直接来源于Lgr5⁺成体干细胞,也可以利用损伤反应诱导组织细胞回到干细胞状态。2017年,Clevers等^[58]在类器官中阻断表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)或丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)信号通路,体外诱导Lgr5⁺干细胞沉默,从而获得一种偏向肠内分泌细胞分化的类器官。在此基础上,Clevers等^[58]发现联合抑制Wnt、Notch和MAPK信号通路后,类器官能够分化出多种肠分泌细胞。在后续的研究中,Fujii等^[59]对小肠类器官的培养条件进行了完善,胰岛素样生长因子-1(insulin-like growth factors 1, IGF-1)和FGF-2能

够有效增加人类小肠干细胞的克隆能力,使小肠类器官能够同时进行多样分化和自我更新。Serra 等^[60]发现 Yes 相关蛋白 1 (yes-associated protein 1, Yap1)可以作为检测类器官组织完整性的信号因子。类器官组织解体后, Yap1 被激活,驱动组织修复;组织修复后,局部细胞聚集,又能在类器官中诱发 Yap1 的特异性激活。Yap1 也可以在体内驱动 δ 样配体 1 (delta-like canonical Notch ligand 1, DLL1)的特异性表达和潘氏细胞的形成。Wnt 信号通路在类器官的培养中也发挥着重要作用, Miao 等^[61]设计了一种改良的 Wnt 分子,使 Wnt 卷曲受体(Wnt-Frizzled, Fzd)与低密度脂蛋白受体相关蛋白 6 (LDL receptor related protein 6, Lrp6)成为异二聚体。给予 Fzd 亚型特异性 Wnt 信号后, Fzd5 和/或 Fzd8 受体的激动作用可以促进成体肠隐窝细胞增殖,提高了类器官增殖和长期维持的能力。

5.2 小肠类器官的研究应用

5.2.1 小肠类器官与疾病建模

小肠类器官是最早建立的类器官系统,目前已应用于多种疾病的研究中,其中包括囊性纤维化和细菌病毒感染。囊性纤维化(cystic fibrosis, CF)是一种罕见的疾病,其特征是上皮细胞中囊性纤维化跨膜电导调节因子(cystic fibrosis transmembrane conductance regulator, CFTR)的氯离子通道发生突变^[4]。CFTR 众多的突变表型很难用常规细胞系和动物模型来模拟,临床上也缺乏有效的药物或疗法,因此类器官成为研究这类疾病的重要平台。2013 年, Dekkers 等^[62]使用小肠类器官研发了一种名为“毛喉素诱导肿胀 (forskolin-induced swelling, FIS)”的方法对囊性纤维化进行功能性检测。该研究发现毛喉素能够活化类器官中的 CFTR,进而引起类器官肿胀。在缺乏 CFTR 或 CFTR 突变的样本中,这类肿胀将会减少。FIS 为囊性纤维化的药物筛选

创造了全新的研究模型,并为患者个性化治疗提供可能。

胃肠道是病毒、细菌和寄生虫感染产生传染病的主要场所^[63],小肠类器官具有许多与人肠上皮相似的特性,是研究传染性疾病的发病机理和治疗方法的理想平台。诺如病毒是一种可引起急性胃肠炎的肠道病毒,由于缺乏合适的体外培养模型,目前尚无有效的抗病毒药或疫苗^[64]。用于检测诺如病毒 RNA 的传统实验室方法虽然灵敏度较高,但无法区别感染性与非感染性病毒。2019 年, Chan 等^[65]使用小肠类器官培养诺如病毒,并利用实时逆转录 PCR 技术检测诺如病毒复制的阈值。他们发现当诺如病毒接种 $Ct \leq 30$ 时,病毒能够在类器官中产生有效复制,该结果有助于临床工作中判断患者体内的病毒是否有传染性。轮状病毒、志贺菌和大肠杆菌也是引起腹泻的主要病原体,类器官已应用于相关疾病的研究中。2012 年, Finkbeiner 等^[66]发现小肠类器官易受实验轮状病毒(猿猴 SA11)和临床轮状病毒分离株的感染。此外,该研究还发现 iPSC 来源的小肠类器官支持粪便中病原体的复制。由此可见,小肠类器官具有培养传统模型上难以或不可能生长的肠道病原体的潜力。2020 年, Pradhan 等^[67]建立了小肠类器官感染志贺毒素的模型,并观察了小肠组织对志贺毒素感染的生物学反应。该研究发现志贺毒素能够诱导肠上皮细胞和间质细胞的坏死和凋亡,而保护肠道上皮屏障能够帮助类器官更好地抵御志贺毒素。同年, Barron 等^[68]使用非致病性大肠杆菌 ECOR2 显微注射小肠类器官,发现 *RpoS* 基因缺失能够降低 ECOR2 定植小肠类器官的能力。我们目前在小肠类器官开展支链脂肪酸抑制致病性大肠杆菌 (enteropathogenic *Escherichia coli*, EPEC)引起的炎症的相关研究。研究结果初步表明支链脂肪酸能够抑制炎症因子 IL-1 β 、TNF- α 的表达,后续

将利用小肠类器官对支链脂肪酸抑制 EPEC 炎症的分子机制展开研究(未发表)。

5.2.2 小肠类器官与药物筛选

人肠道细胞系(例如 Caco-2)是常用于药物开发的细胞平台^[69-70], 小肠类器官的问世为药物筛选带来了全新的研发平台。2016年, Vijftigschild 等^[71]使用 FIS 模型筛选 G 蛋白偶联受体调节的小分子化合物, 研究发现 β_2 -肾上腺素能受体激动剂可强烈诱导 CFTR 功能。目前, 这一发现已被临床证实治疗有效。该研究表明小肠类器官可建立良好的临床前模型, 能够被用于开发和测试针对 CF 的有效治疗方法。2018年, Yin 等^[72]使用人小肠类器官筛选抑制轮状病毒感染的潜在药物, 研究发现环孢素 A 与霉酚酸对轮状病毒有效, 证明了小肠类器官应用于肠道感染药物研究的可行性。综上所述, 小肠类器官更贴近人类小肠器官结构和功能, 更能表现出人体中药物的反应, 因此, 小肠类器官将是未来药物筛选的重要平台。

5.2.3 小肠类器官与再生医学

短肠综合征可导致人体无法吸收足够的营养成分, 引起肠衰竭。肠移植作为这类疾病的重要治疗手段, 存在长期生存率低和长期免疫抑制等不良预后结果^[73], 因此需要开发一种更为有效的治疗方法。组织工程小肠是治疗这种疾病的潜在方法之一, 而小肠类器官单位可以为组织工程学肠道提供细胞成分。2018年, Hou 等^[74]将小鼠和人类器官单位分别植入小鼠体内形成组织工程学肠道, 在体内发育 3 个月后能够形成类似成人小肠的绒毛和隐窝结构, 并具备成熟的小肠细胞分化。这种类器官单位的优势在于无需在培养时添加外源性生长因子便能维持肠道干细胞的扩增能力, 从而降低了因添加生长因子而产生的致癌风险。2022年, Lee 等^[75]优化了小肠类器官的保存条件, 在 4 °C 下用 5% 二甲基亚砷

预处理类器官 30 min 即可获得最佳的保存效果。解冻后的小肠类器官连续传代后依然具有稳定的再生活性, 该技术改良了再生医学对于类器官的储存技术。在肠道再生医学中, 类器官单元是备选的细胞来源, 虽然在小鼠中取得了进展, 但仍需更多的实验验证才能走向人体研究。

6 总结与展望

类器官由干细胞启动分裂、分化, 并发生多种类型细胞的自组装。以小肠类器官为例, 类器官中包含肠上皮细胞、杯状细胞、潘氏细胞、肠内分泌细胞以及 Lgr5⁺干细胞等多种类型的细胞, 同时具有肠上皮相似的结构^[3]。受到现有的技术限制, 类器官的大小远小于真实器官。尽管类器官不是真正意义上的人体器官, 但其在结构和功能上能够最大程度地模拟体内组织的结构及功能。因此, 相较于传统的 2D 细胞系和动物模型, 基于类器官开展研究的实验数据更为可靠。同时, 来自患者组织的类器官也具备药物筛选及个性化治疗的潜力。综上所述, 类器官技术在多种疾病模型构建、药物筛选和转化医学等领域具有重要应用价值。

尽管类器官技术具有诸多优势, 但其仍存在局限性。首先, 类器官培养使用的基质胶主要来自 Engelbreth-Holm-Swarm 小鼠肉瘤的基底膜基质 Matrigel, 其含有层粘连蛋白、IV 胶原蛋白和巢蛋白等基质蛋白, 还含有 TGF- β 、表皮生长因子、类胰岛素生长因子等多种生长因子。Matrigel 不能建立标准化的组分比例, 同时具有肿瘤、小鼠来源等属性, 因此 Matrigel 不能构建无动物源成分的培养体系, 很难应用于临床。由于 Matrigel 存在多种缺陷, 其他动物、植物来源的基质胶以及人工合成的大分子聚合物基质胶陆续被研发以替代 Matrigel。Giobbe 等^[76]用猪小肠脱去细胞制备了水凝胶基质, 与 Matrigel 相比,

该基质能够更好地支持内胚层类器官的生长。该水凝胶基质具有材料易获得、产量高,而且不是肿瘤来源等特点,因此具有替代 Matrigel 的市场潜力和应用价值。Curvello 等^[77]用植物纳米纤维素制备基质胶,并利用该基质胶成功培养小肠类器官。该基质胶在不同批次之间具有高度重复性,因此相比传统的 Matrigel 具有不可比拟的优势。动物来源的基质胶中残存的动物蛋白成分可能会引起宿主的免疫反应,因此不适合临床应用。Sorrentino 等^[78]用聚乙二醇作为骨架,整合肝脏中发现的关键细胞外基质蛋白 Laminin-111、IV 型胶原和纤连蛋白等,制备了完全化学合成的基质胶,并成功将该基质胶应用于肝脏类器官的培养。化学合成的基质胶可以通过改造多种试验条件产生符合不同个性化需求的基质胶,因此具有一定的应用前景。基质胶作为 3D 类器官培养必不可少的材料,未来需要进行更多的探索以满足再生医学领域的多种要求。其次,类器官培养的成熟度较为局限,缺乏血管、淋巴及神经等功能,只能形成类似于胎儿的组织而非成人组织。类器官的血管化研究一直是类器官研究领域的热点与难点,在肝脏和小肠等类器官中有血管化的相关报道。Baptista 等^[79]使用灌注洗涤剂去除肝脏组织的细胞成分后保留了完整的血管网络,然后将人脐静脉血管内皮细胞(human umbilical vein endothelial cells, HUVECs)和人胎肝细胞接种到血管网络上。该方法利用肝脏内部血管网络实现肝脏组织的血管化培养。2013 年,Takebe 等^[45]将 iPSC 诱导形成的肝内胚层细胞与 HUVECs 和人骨髓来源的间充质干细胞(human bone marrow mesenchymal stem cells, hBMSCs)共培养形成具有 3D 结构的肝芽,并移植入免疫缺陷的小鼠中。结果表明移植的肝脏胎芽血管与宿主血管相互连接形成复杂的血管网络,而且宿主血液灌注到新形成的血管网络中。Dietinger 等^[80]在小肠类

器官培养体系中加入 EGF、血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)、bFGF 等细胞因子诱导内源性血管内皮细胞分化,最终形成了血管化的小肠类器官。未来需要建立拥有血管和神经支配的更为完善的“类器官”,成为模拟人体内部的真实反映。最后,不同的类器官培养条件和方法可能导致细胞组成发生很大变化,从而出现不同的器官分化,进而影响到实验结果的重复性。未来需要制定统一的、标准化的培养方案来提高科研的重复性和再现性。

目前消化系统的类器官技术已基本建立成功,但是不同的消化器官的研究进展不同。胃、肝、小肠等重要消化器官的类器官的疾病模型已经囊括了众多疾病,大量类器官样本库也已经建立起来,药物筛选等研究能够在类器官样本库中充分开展。食管类器官的发展相较于其他消化器官要稍晚一些,目前的研究重心集中于食管癌的相关研究,其他疾病的研究较少。而在味蕾的研究中,类器官技术则刚刚起步,目前仍局限于小鼠类器官的相关研究,还未开展人类类器官的研究。

消化系统 PDO 更加贴近患者疾病发生的真实情况,又具有组织易获取等优点,因此在很多研究中广泛应用。利用多个 PDO 构建类器官生物库^[38-40],可充分满足药物筛选及个性化治疗等研究的需求。同时,这类器官能够有效解决罕见病缺少研究模型的弊端,通过将有限的病例集中建立类器官样本库,结合样本病理分析、临床诊断等其他数据,从而多角度地对疾病的发生发展进行机制研究(图 2)^[81]。目前患者来源的消化系统类器官建立的难点在于培养要求高或难以获得活检样本的类器官。未来需要建立更多的类器官生物库以加强不同类器官生物库库间的合作与开放。

类器官的三维结构使其成为更有效的疾病建模和药物筛选平台。三维立体的类器官疾病模

型能够带来远胜于 2D 平面细胞系的研究优势, 目前很多研究将类器官技术应用到研究中, 实现多种模型的相互参照与对比。利用类器官平台筛选药物已经被证明是可行的, 类器官贴近人体的结构和功能使其成为了药物研究的潜力平台^[69]。PDO 具有筛选个性化药物的潜能^[54], 类

器官技术可能成为未来精准医学发展的一大助力。类器官拥有再生与增殖能力, 在再生医学领域也同样具有巨大的应用潜力^[82]。未来需要对类器官技术进行提升, 使类器官能够具备更完善的器官功能, 才能在疾病建模、药物筛选和再生医学等领域发挥更大的作用。

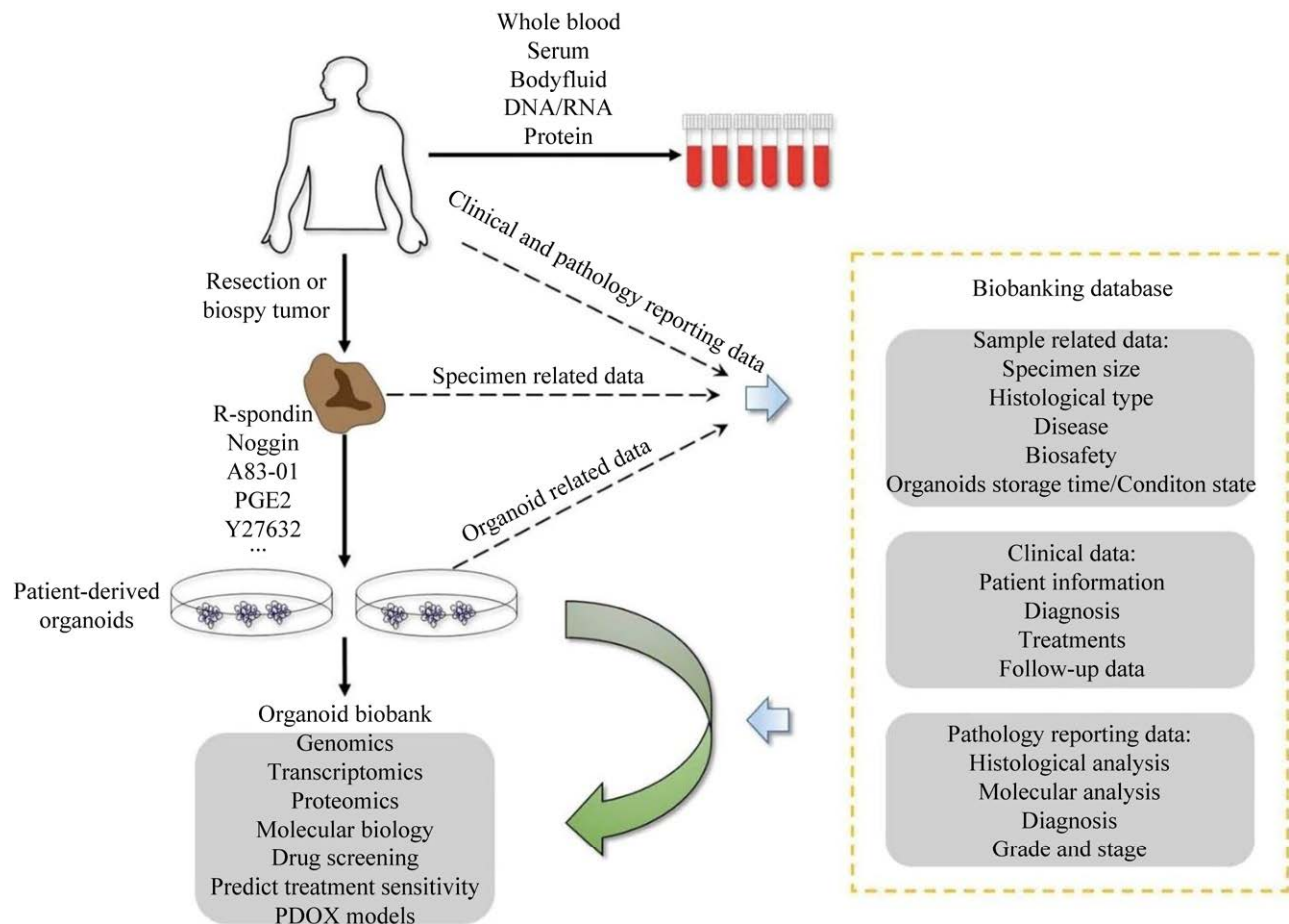


图 2 类器官生物样本库与数据库的结合为癌症治疗与个性化医疗提供帮助^[81] 医院信息系统拥有完整的患者信息, 研究人员可以从生物库数据管理系统中收集样本相关的信息, 并从生物库中获得类器官和组织, 研究人员可以进行药物筛选, 进行个体化的化疗测试等相关研究

Figure 2 Combination of living organoid biobank and databases facilitates cancer research and precision medicine^[81]. Patient-related data are available through the hospital information system. These data usually contain sensitive patient information which is inaccessible for external researchers. Researchers who have obtained ethics committee approval can collect sample-related anonymous information from the biobank data management system, and obtain the organoid model and fresh frozen tissue from the biobank infrastructure. Therefore, researchers can use organoid models for drug screening and testing chemotherapy response at the individual patient level with PDOX models and patient-derived organoid xenograft models.

REFERENCES

- [1] ROSSI G, MANFRIN A, LUTOLF MP. Progress and potential in organoid research[J]. *Nature Reviews Genetics*, 2018, 19(11): 671-687.
- [2] LANCASTER MA, KNOBLICH JA. Organogenesis in a dish: modeling development and disease using organoid technologies[J]. *Science*, 2014, 345(6194): 1247125.
- [3] SATO T, VRIES RG, SNIPPETT HJ, van de WETERING M, BARKER N, STANGE DE, van ES JH, ABO A, KUJALA P, PETERS PJ, CLEVERS H. Single Lgr5 stem cells build crypt-villus structures *in vitro* without a mesenchymal niche[J]. *Nature*, 2009, 459(7244): 262-265.
- [4] YIN YB, de JONGE HR, WU X, YIN YL. Mini-gut: a promising model for drug development[J]. *Drug Discovery Today*, 2019, 24(9): 1784-1794.
- [5] CLEVERS H. Modeling development and disease with organoids[J]. *Cell*, 2016, 165(7): 1586-1597.
- [6] ROPER SD, CHAUDHARI N. Taste buds: cells, signals and synapses[J]. *Nature Reviews Neuroscience*, 2017, 18(8): 485-497.
- [7] REN W, LEWANDOWSKI BC, WATSON J, AIHARA E, IWATSUKI K, BACHMANOV AA, MARGOLSKEE RF, JIANG P. Single Lgr5- or Lgr6-expressing taste stem/progenitor cells generate taste bud cells *ex vivo*[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2014, 111(46): 16401-16406.
- [8] SHECHTMAN LA, PIAROWSKI CM, SCOTT JK, GOLDEN EJ, GAILLARD D, BARLOW LA. Generation and culture of lingual organoids derived from adult mouse taste stem cells[J]. *Journal of Visualized Experiments*, 2021(170): 10.3791/62300.
- [9] ADPAIKAR AA, ZHANG SS, KIM HY, KIM KW, MOON SJ, LEE JM, JUNG HS. Fine-tuning of epithelial taste bud organoid to promote functional recapitulation of taste reactivity[J]. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 2022, 79(4): 211.
- [10] REN WW, LIU Q, ZHANG XJ, YU YQ. Age-related taste cell generation in circumvallate papillae organoids via regulation of multiple signaling pathways[J]. *Experimental Cell Research*, 2020, 394(2): 112150.
- [11] LIN X, LU C, OHMOTO M, CHOMA K, MARGOLSKEE RF, MATSUMOTO I, JIANG P. R-spondin substitutes for neuronal input for taste cell regeneration in adult mice[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2021, 118(2): e2001833118.
- [12] MARIA OM, ELIOPOULOS N, MUANZA T. Radiation-induced oral mucositis[J]. *Frontiers in Oncology*, 2017, 7: 89.
- [13] FENG S, ACHOUTE L, MARGOLSKEE RF, JIANG P, WANG H. Lipopolysaccharide-induced inflammatory cytokine expression in taste organoids[J]. *Chemical Senses*, 2020, 45(3): 187-194.
- [14] WU Z, HUANG YL, HU WQ, REN LY, JIANG PH, MARGOLSKEE RF, WANG H, FENG S. Lipopolysaccharide-induced inflammation increases nitric oxide production in taste buds[J]. *Brain, Behavior, and Immunity*, 2022, 103: 145-153.
- [15] SACHDEVA UM, SHIMONOSONO M, FLASHNER S, CRUZ-ACUÑA R, GABRE JT, NAKAGAWA H. Understanding the cellular origin and progression of esophageal cancer using esophageal organoids[J]. *Cancer Letters*, 2021, 509: 39-52.
- [16] KASAGI Y, CHANDRAMOULEESWARAN PM, WHELAN KA, TANAKA K, GIROUX V, SHARMA M, WANG J, BENITEZ AJ, DEMARSHALL M, TOBIAS JW, HAMILTON KE, FALK GW, SPERGEL JM, KLEIN-SZANTO AJ, RUSTGI AK, MUIR AB, NAKAGAWA H. The esophageal organoid system reveals functional interplay between Notch and cytokines in reactive epithelial changes[J]. *Cellular and Molecular Gastroenterology and Hepatology*, 2018, 5(3): 333-352.
- [17] KARAKASHEVA TA, KIJIMA T, SHIMONOSONO M, MAEKAWA H, SAHU V, GABRE JT, CRUZ-ACUNA R, GIROUX V, SANGWAN V, WHELAN KA, NATSUGOE S, YOON AJ, PHILIPONE E, KLEIN-SZANTO AJ, GINSBERG GG, FALK GW, ABRAMS JA, QUE J, BASU D, FERRI L, et al. Generation and characterization of patient-derived head and neck, oral, and esophageal cancer organoids[J]. *Curr Protoc Stem Cell Biol*, 2020, 53(1): e109.
- [18] ZHANG YC, YANG Y, JIANG M, HUANG SX, ZHANG WW, AL ALAM D, DANOPOULOS S,

- MORI M, CHEN YW, BALASUBRAMANIAN R, CHUVA de SOUSA LOPES SM, SERRA C, BIALECKA M, KIM E, LIN SJ, TOSTE de CARVALHO ALR, RICCIO PN, CARDOSO WV, ZHANG X, SNOECK HW, et al. 3D modeling of esophageal development using human PSC-derived basal progenitors reveals a critical role for Notch signaling[J]. *Cell Stem Cell*, 2018, 23(4): 516-529.e5.
- [19] TRISNO SL, PHILO KED, MCCRACKEN KW, CATÁ EM, RUIZ-TORRES S, RANKIN SA, HAN L, NASR T, CHATURVEDI P, ROTHENBERG ME, MANDEGAR MA, WELLS SI, ZORN AM, WELLS JM. Esophageal organoids from human pluripotent stem cells delineate Sox2 functions during esophageal specification[J]. *Cell Stem Cell*, 2018, 23(4): 501-515.e7.
- [20] NAKAGAWA H, KASAGI Y, KARAKASHEVA TA, HARA T, AARON B, SHIMONOSONO M, KIJIMA T, GIROUX V, BAILEY D, WILKINS B, ABRAMS JA, FALK GW, ACEVES SS, SPERGEL JM, HAMILTON KE, WHELAN KA, MUIR AB. Modeling epithelial homeostasis and reactive epithelial changes in human and murine three-dimensional esophageal organoids[J]. *Curr Protoc Stem Cell Biol*, 2020, 52(1): e106.
- [21] THRIFT AP. Global burden and epidemiology of Barrett oesophagus and oesophageal cancer[J]. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 2021, 18(6): 432-443.
- [22] KIJIMA T, NAKAGAWA H, SHIMONOSONO M, CHANDRAMOULEESWARAN PM, HARA T, SAHU V, KASAGI Y, KIKUCHI O, TANAKA K, GIROUX V, MUIR AB, WHELAN KA, OHASHI S, NAGANUMA S, KLEIN-SZANTO AJ, SHINDEN Y, SASAKI K, OMOTO I, KITA Y, MUTO M, et al. Three-dimensional organoids reveal therapy resistance of esophageal and oropharyngeal squamous cell carcinoma cells[J]. *Cellular and Molecular Gastroenterology and Hepatology*, 2019, 7(1): 73-91.
- [23] PETERS Y, AL-KAABI A, SHAHEEN NJ, CHAK A, BLUM A, SOUZA RF, DI PIETRO M, IYER PG, PECH O, FITZGERALD RC, SIERSEMA PD. Barrett oesophagus[J]. *Nature Reviews Disease Primers*, 2019, 5: 35.
- [24] SATO T, STANGE DE, FERRANTE M, VRIES RG, VAN ES JH, VAN DEN BRINK S, VAN HOUTDT WJ, PRONK A, VAN GORP J, SIERSEMA PD, CLEVERS H. Long-term expansion of epithelial organoids from human colon, adenoma, adenocarcinoma, and Barrett's epithelium[J]. *Gastroenterology*, 2011, 141(5): 1762-1772.
- [25] NOWICKI-OSUCH K, ZHUANG L, JAMMULA S, BLEANEY CW, MAHBUBANI KT, DEVONSHIRE G, KATZ-SUMMERCORN A, ELING N, WILBREY-CLARK A, MADISSOON E, GAMBLE J, DI PIETRO M, O'DONOVAN M, MEYER KB, SAEB-PARSY K, SHARROCKS AD, TEICHMANN SA, MARIONI JC, FITZGERALD RC. Molecular phenotyping reveals the identity of barrett's esophagus and its malignant transition[J]. *Science*, 2021, 373(6556): 760-767.
- [26] KUNZE B, WEIN F, FANG HY, ANAND A, BAUMEISTER T, STRANGMANN J, GERLAND S, INGERMANN J, MÜNCH NS, WIETHALER M, SAHM V, HIDALGO-SASTRE A, LANGE S, LIGHTDALE CJ, BOKHARI A, FALK GW, FRIEDMAN RA, GINSBERG GG, IYER PG, JIN ZZ, et al. Notch signaling mediates differentiation in barrett's esophagus and promotes progression to adenocarcinoma[J]. *Gastroenterology*, 2020, 159(2): 575-590.
- [27] LIU X, CHENG YL, ABRAHAM JM, WANG ZX, WANG Z, KE XQ, YAN R, SHIN EJ, NGAMRUENGPHONG S, KHASHAB MA, ZHANG GJ, MCNAMARA G, EWALD AJ, LIN DC, LIU ZW, MELTZER SJ. Modeling Wnt signaling by CRISPR-Cas9 genome editing recapitulates neoplasia in human barrett epithelial organoids[J]. *Cancer Letters*, 2018, 436: 109-118.
- [28] SPURRIER RG, SPEER AL, HOU X, EL-NACHEF WN, GRIKSCHIT TC. Murine and human tissue-engineered esophagus form from sufficient stem/progenitor cells and do not require microdesigned biomaterials[J]. *Tissue Eng Part A*, 2015, 21(5/6): 906-915.
- [29] SEIDLITZ T, KOO BK, STANGE DE. Gastric organoids-an *in vitro* model system for the study of gastric development and road to personalized medicine[J]. *Cell Death and Differentiation*, 2021, 28(1): 68-83.
- [30] SCHUMACHER MA, AIHARA E, FENG R,

- ENGEVIK A, SHROYER NF, OTTEMANN KM, WORRELL RT, MONTROSE MH, SHIVDASANI RA, ZAVROS Y. The use of murine-derived fundic organoids in studies of gastric physiology[J]. *J Physiol*, 2015, 593(8): 1809-1827.
- [31] MCCracken KW, CATÁ EM, CRAWFORD CM, SINAGOOGA KL, SCHUMACHER M, ROCKICH BE, TSAI YH, MAYHEW CN, SPENCE JR, ZAVROS Y, WELLS JM. Modelling human development and disease in pluripotent stem-cell-derived gastric organoids[J]. *Nature*, 2014, 516(7531): 400-404.
- [32] SCHLAERMANN P, TOELLE B, BERGER H, SCHMIDT SC, GLANEMANN M, ORDEMANN J, BARTFELD S, MOLLENKOPF HJ, MEYER TF. A novel human gastric primary cell culture system for modelling *Helicobacter pylori* infection *in vitro*[J]. *Gut*, 2016, 65(2): 202-213.
- [33] WANG L, WU J, CHEN J, DOU WK, ZHAO QL, HAN JL, LIU JL, SU WG, LI AQ, LIU PB, AN Z, XU CH, SUN Y. Advances in reconstructing intestinal functionalities *in vitro*: from two/three dimensional-cell culture platforms to human intestine-on-a-chip[J]. *Talanta*, 2021, 226: 122097.
- [34] LEE KK, MCCAULEY HA, BRODA TR, KOFRON MJ, WELLS JM, HONG CI. Human stomach-on-a-chip with luminal flow and peristaltic-like motility[J]. *Lab on a Chip*, 2018, 18(20): 3079-3085.
- [35] CHERNE MD, SIDAR B, SEBRELL TA, SANCHEZ HS, HEATON K, KASSAMA FJ, ROE MM, GENTRY AB, CHANG CB, WALK ST, JUTILA M, WILKING JN, BIMCZOK D. 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[J]. *Front Pharmacol*, 2021, 12: 707891.
- [36] O'ROURKE JL, LEE A. Animal models of *Helicobacter pylori* infection and disease[J]. *Microbes and Infection*, 2003, 5(8): 741-748.
- [37] TAKAHASHI M, OGURA K, MAEDA S, MORI K, MAFUNE KI, MIKAMI Y, TERANO A, OMATA M. Promoters of epithelialization induce expression of vascular endothelial growth factor in human gastric epithelial cells in primary culture[J]. *FEBS Letters*, 1997, 418(1/2): 115-118.
- [38] KAWASAKI K, TOSHIMITSU K, MATANO M, FUJITA M, FUJII M, TOGASAKI K, EBISUDANI T, SHIMOKAWA M, TAKANO A, TAKAHASHI S, OHTA Y, NANKI K, IGARASHI R, ISHIMARU K, ISHIDA H, SUKAWA Y, SUGIMOTO S, SAITO Y, MAEJIMA K, SASAGAWA S, et al. An organoid biobank of neuroendocrine neoplasms enables genotype-phenotype mapping[J]. *Cell*, 2020, 183(5): 1420-1435.e21.
- [39] NANKI K, TOSHIMITSU K, TAKANO A, FUJII M, SHIMOKAWA M, OHTA Y, MATANO M, SEINO T, NISHIKORI S, ISHIKAWA K, KAWASAKI K, TOGASAKI K, TAKAHASHI S, SUKAWA Y, ISHIDA H, SUGIMOTO S, KAWAKUBO H, KIM J, KITAGAWA Y, SEKINE S, et al. Divergent routes toward Wnt and R-spondin niche independency during human gastric carcinogenesis[J]. *Cell*, 2018, 174(4): 856-869.e17.
- [40] YAN HHN, SIU HC, LAW S, HO SL, YUE SSK, TSUI WY, CHAN D, CHAN AS, MA S, LAM KO, BARTFELD S, MAN AHY, LEE BCH, CHAN ASY, WONG JWH, CHENG PSW, CHAN AKW, ZHANG JW, SHI J, FAN XD, 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.
- [41] OUYANG SM, LI HX, LOU LL, HUANG QY, ZHANG ZH, MO JS, LI M, LU JY, ZHU K, CHU YJ, DING W, ZHU JZ, LIN ZY, ZHONG L, WANG JJ, YUE PB, TURKSON J, LIU PQ, WANG YX, ZHANG XL. Inhibition of STAT3-ferroptosis negative regulatory axis suppresses tumor growth and alleviates chemoresistance in gastric cancer[J]. *Redox Biology*, 2022, 52: 102317.
- [42] ZOU J, WANG S, CHAI N, YUE H, YE P, GUO P, LI F, WEI B, MA G, WEI W, LINGHU E. Construction of gastric cancer patient-derived organoids and their utilization in a comparative study of clinically used paclitaxel nanoformulations[J]. *Journal of Nanobiotechnology*, 2022, 20(1): 233.
- [43] GRIKSCHEIT TC, OGILVIE JB, OCHOA ER, ALSBERG E, MOONEY D, VACANTI JP. Tissue-engineered colon exhibits function *in vivo*[J]. *Surgery*, 2002, 132(2): 200-204.
- [44] MAEMURA T, SHIN M, SATO M, MOCHIZUKI H,

- VACANTI JP. A tissue-engineered stomach as a replacement of the native stomach[J]. *Transplantation*, 2003, 76(1): 61-65.
- [45] TAKEBE T, SEKINE K, ENOMURA M, KOIKE H, KIMURA M, OGAERI T, ZHANG RR, UENO Y, ZHENG YW, KOIKE N, AOYAMA S, ADACHI Y, TANIGUCHI H. Vascularized and functional human liver from an iPSC-derived organ bud transplant[J]. *Nature*, 2013, 499(7459): 481-484.
- [46] VYAS D, BAPTISTA PM, BROVOLD M, MORAN E, GASTON B, BOOTH C, SAMUEL M, ATALA A, SOKER S. Self-assembled liver organoids recapitulate hepatobiliary organogenesis *in vitro*[J]. *Hepatology: Baltimore, Md*, 2018, 67(2): 750-761.
- [47] MUN SJ, RYU JS, LEE MO, SON YS, OH SJ, CHO HS, SON MY, KIM DS, KIM SJ, YOO HJ, LEE HJ, KIM J, JUNG CR, CHUNG KS, SON MJ. Generation of expandable human pluripotent stem cell-derived hepatocyte-like liver organoids[J]. *Journal of Hepatology*, 2019, 71(5): 970-985.
- [48] HUCH M, DORRELL C, BOJ SF, VAN ES JH, LI VSW, VAN DE WETERING M, SATO T, HAMER K, SASAKI N, FINEGOLD MJ, HAFT A, VRIES RG, GROMPE M, CLEVERS H. *In vitro* expansion of single Lgr5⁺ liver stem cells induced by Wnt-driven regeneration[J]. *Nature*, 2013, 494(7436): 247-250.
- [49] HUCH M, GEHART H, VAN BOXTEL R, HAMER K, BLOKZIJL F, VERSTEGEN MMA, ELLIS E, van WENUM M, FUCHS SA, de LIGT J, van de WETERING M, SASAKI N, BOERS SJ, KEMPERMAN H, de JONGE J, IJZERMANS JNM, NIEUWENHUIS EES, HOEKSTRA R, STROM S, VRIES RRG, et al. Long-term culture of genome-stable bipotent stem cells from adult human liver[J]. *Cell*, 2015, 160(1/2): 299-312.
- [50] PENG WC, LOGAN CY, FISH M, ANBARCHIAN T, AGUISANDA F, ÁLVAREZ-VARELA A, WU P, JIN YH, ZHU JJ, LI B, GROMPE M, WANG B, NUSSE R. Inflammatory cytokine TNF α promotes the long-term expansion of primary hepatocytes in 3D culture[J]. *Cell*, 2018, 175(6): 1607-1619.e15.
- [51] HU HL, GEHART H, ARTEGIANI B, LÓPEZ-IGLESIAS C, DEKKERS F, BASAK O, van ES J, CHUVA DE SOUSA LOPES SM, BEGTHEL H, KORVING J, VAN DEN BORN M, ZOU CH, QUIRK C, CHIRIBOGA L, RICE CM, MA S, RIOS A, PETERS PJ, de JONG YP, CLEVERS H. Long-term expansion of functional mouse and human hepatocytes as 3D organoids[J]. *Cell*, 2018, 175(6): 1591-1606.e19.
- [52] GÓMEZ-MARIANO G, MATAMALA N, MARTÍNEZ S, JUSTO I, MARCACUZCO A, JIMENEZ C, MONZÓN S, CUESTA I, GARFIA C, MARTÍNEZ MT, HUCH M, PÉREZ de CASTRO I, POSADA M, JANCIAUSKIENE S, MARTÍNEZ-DELGADO B. Liver organoids reproduce alpha-1 antitrypsin deficiency-related liver disease[J]. *Hepatology International*, 2020, 14(1): 127-137.
- [53] HE S, HU B, LI C, LIN P, TANG WG, SUN YF, FENG FYM, GUO W, LI J, XU Y, YAO QL, ZHANG X, QIU SJ, ZHOU J, FAN J, LI YX, LI H, YANG XR. PDXliver: a database of liver cancer patient derived xenograft mouse models[J]. *BMC Cancer*, 2018, 18(1): 1-9.
- [54] BROUTIER L, MASTROGIOVANNI G, VERSTEGEN MM, FRANCIES HE, GAVARRÓ LM, BRADSHAW CR, ALLEN GE, ARNES-BENITO R, SIDOROVA O, GASPERSZ MP, GEORGAKOPOULOS N, KOO BK, DIETMANN S, DAVIES SE, PRASEEDOM RK, LIESHOUT R, IJZERMANS JNM, WIGMORE SJ, SAEB-PARSY K, GARNETT MJ, et al. Human primary liver cancer-derived organoid cultures for disease modeling and drug screening[J]. *Nature Medicine*, 2017, 23(12): 1424-1435.
- [55] NUCIFORO S, FOFANA I, MATTER MS, BLUMER T, CALABRESE D, BOLDANOVA T, PISCUOGLIO S, WIELAND S, RINGNALDA F, SCHWANK G, TERRACCIANO LM, NG CKY, HEIM MH. Organoid models of human liver cancers derived from tumor needle biopsies[J]. *Cell Reports*, 2018, 24(5): 1363-1376.
- [56] CAO W, LIU J, WANG L, LI M, VERSTEGEN MMA, YIN Y, MA B, CHEN K, BOLKESTEIN M, SPRENGERS D, van DER LAAN LJW, DOUKAS M, KWEKKEBOOM J, SMITS R, PEPPELENBOSCH MP, PAN Q. Modeling liver cancer and therapy responsiveness using organoids derived from primary mouse liver tumors[J]. *Carcinogenesis*, 2019, 40(1): 145-154.

- [57] BAI P, GE C, YANG H, CHEN H, WAN L, ZHANG Y, ZHANG B, ZENG Q, FAN Z, PEI X, YUE W, YAN X. Screening a redox library identifies the anti-tumor drug hinokitiol for treating intrahepatic cholangiocarcinoma[J]. *Frontiers in Bioscience: Landmark Edition*, 2022, 27(1): 18.
- [58] BASAK O, BEUMER J, WIEBRANDS K, SENO H, VAN OUDENAARDEN A, CLEVERS H. Induced quiescence of Lgr5⁺ stem cells in intestinal organoids enables differentiation of hormone-producing enteroendocrine cells[J]. *Cell Stem Cell*, 2017, 20(2): 177-190.e4.
- [59] FUJII M, MATANO M, TOSHIMITSU K, TAKANO A, MIKAMI Y, NISHIKORI S, SUGIMOTO S, SATO T. Human intestinal organoids maintain self-renewal capacity and cellular diversity in niche-inspired culture condition[J]. *Cell Stem Cell*, 2018, 23(6): 787-793.e6.
- [60] SERRA D, MAYR U, BONI A, LUKONIN I, REMPFLER M, CHALLET MEYLAN L, STADLER MB, STRNAD P, PAPASAIKAS P, VISCHI D, WALDT A, ROMA G, LIBERALI P. Self-organization and symmetry breaking in intestinal organoid development[J]. *Nature*, 2019, 569(7754): 66-72.
- [61] MIAO Y, HA A, de LAU W, YUKI K, SANTOS AJM, YOU CJ, GEURTS MH, PUSCHHOF J, PLEGUEZUELOS-MANZANO C, PENG WC, SENLICE R, PIANI C, BUIKEMA JW, GBENEDIO OM, VALLON M, YUAN J, de HAAN S, HEMRIKA W, RÖSCH K, DANG LT, et al. Next-generation surrogate wnts support organoid growth and deconvolute frizzled pleiotropy *in vivo*[J]. *Cell Stem Cell*, 2020, 27(5): 840-851.e6.
- [62] DEKKERS JF, van der ENT CK, BEEKMAN JM. Novel opportunities for CFTR-targeting drug development using organoids[J]. *Rare Diseases*, 2013, 1(1): e27112.
- [63] YAO R, OYANAGI J, NATSUME Y, KUSAMA D, KATO Y, NAGAYAMA S, NODA T. Suppression of intestinal tumors by targeting the mitotic spindle of intestinal stem cells[J]. *Oncogene*, 2016, 35(47): 6109-6119.
- [64] BÁNYAI K, ESTES MK, MARTELLA V, PARASHAR UD. Viral gastroenteritis[J]. *The Lancet*, 2018, 392(10142): 175-186.
- [65] CHAN MC, CHEUNG SKC, MOHAMMAD KN, CHAN JCM, ESTES MK, CHAN PKS. Use of human intestinal enteroids to detect human norovirus infectivity[J]. *Emerging Infectious Diseases*, 2019, 25(9): 1730-1735.
- [66] FINKBEINER SR, ZENG XL, UTAMA B, ATMAR RL, SHROYER NF, ESTES MK. Stem cell-derived human intestinal organoids as an infection model for rotaviruses[J]. *mBio*, 2012, 3(4): e00159-12..
- [67] PRADHAN S, KARVE SS, WEISS AA, HAWKINS J, POLING HM, HELMRATH MA, WELLS JM, MCCAULEY HA. Tissue responses to shiga toxin in human intestinal organoids[J]. *Cellular and Molecular Gastroenterology and Hepatology*, 2020, 10(1): 171-190.
- [68] BARRON MR, CIEZA RJ, HILL DR, HUANG S, YADAGIRI VK, SPENCE JR, YOUNG VB. The lumen of human intestinal organoids poses greater stress to bacteria compared to the germ-free mouse intestine: *Escherichia coli* deficient in RpoS as a colonization probe[J]. *mSphere*, 2020, 5(6): e00777-20.
- [69] BEIN A, SHIN W, JALILI-FIROOZINEZHAD S, PARK MH, SONTHEIMER-PHELPS A, TOVAGLIERI A, CHALKIADAKI A, KIM HJ, INGBER DE. Microfluidic organ-on-a-chip models of human intestine[J]. *Cellular and Molecular Gastroenterology and Hepatology*, 2018, 5(4): 659-668.
- [70] DIMARCO RL, HUNT DR, DEWI RE, HEILSHORN SC. Improvement of paracellular transport in the Caco-2 drug screening model using protein-engineered substrates[J]. *Biomaterials*, 2017, 129: 152-162.
- [71] VIJFTIGSCHILD LA, BERKERS G, DEKKERS JF, ZOMER-VAN OMMEN DD, MATTHES E, KRUISSELBRINK E, VONK A, HENSEN CE, HEIDA-MICHEL S, GEERDINK M, JANSSENS HM, van de GRAAF EA, BRONVELD I, de WINTER-DE GROOT KM, MAJOUR CJ, HEIJERMAN HG, de JONGE HR, HANRAHAN JW, van der ENT CK, Beekman JM. β 2-Adrenergic receptor agonists activate CFTR in intestinal organoids and subjects with cystic fibrosis[J]. *The European Respiratory Journal*, 2016, 48(3): 768-779.
- [72] YIN YB, CHEN SR, HAKIM MS, WANG WS, XU L, DANG W, QU CB, VERHAAR AP, SU JH, FUHLER GM, PEPPELENBOSCH MP, PAN QW. 6-thioguanine

- inhibits rotavirus replication through suppression of Rac1 GDP/GTP cycling[J]. *Antiviral Research*, 2018, 156: 92-101.
- [73] UENO T, WADA M, HOSHINO K, UEMOTO S, TAGUCHI T, FURUKAWA H, FUKUZAWA M. Impact of pediatric intestinal transplantation on intestinal failure in Japan: findings based on the Japanese intestinal transplant registry[J]. *Pediatric Surgery International*, 2013, 29(10): 1065-1070.
- [74] HOU X, CHANG DF, TRECARTIN A, BARTHEL ER, SCHLIEVE CR, FREY MR, FOWLER KL, GRIKSCHHEIT TC. Short-term and long-term human or mouse organoid units generate tissue-engineered small intestine without added signalling molecules[J]. *Experimental Physiology*, 2018, 103(12): 1633-1644.
- [75] LEE BE, LEE BJ, LEE KJ, LEE M, LIM YJ, CHOI JK, KEUM B. A simple and efficient cryopreservation method for mouse small intestinal and colon organoids for regenerative medicine[J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2022, 595: 14-21.
- [76] GIOBBE GG, CROWLEY C, LUNI C, CAMPINOTI S, KHEDR M, KRETZSCHMAR K, de SANTIS MM, ZAMBAITI E, MICHIELIN F, MERAN L, HU QJ, SON GV, URBANI L, MANFREDI A, GIOMO M, EATON S, CACCHIARELLI D, LI VSW, CLEVERS H, BONFANTI P, et al. Extracellular matrix hydrogel derived from decellularized tissues enables endodermal organoid culture[J]. *Nature Communications*, 2019, 10: 5658.
- [77] CURVELLO R, KERR G, MICATI DJ, CHAN WH, RAGHUWANSHI VS, ROSENBLUH J, ABUD HE, GARNIER G. Engineered plant-based nanocellulose hydrogel for small intestinal organoid growth[J]. *Advanced Science: Weinheim, Baden-Wuerttemberg, Germany*, 2020, 8(1): 2002135.
- [78] SORRENTINO G, REZAKHANI S, YILDIZ E, NUCIFORO S, HEIM MH, LUTOLF MP, SCHOONJANS K. Mechano-modulatory synthetic niches for liver organoid derivation[J]. *Nature Communications*, 2020, 11: 3416.
- [79] BAPTISTA PM, SIDDIQUI MM, LOZIER G, RODRIGUEZ SR, ATALA A, SOKER S. The use of whole organ decellularization for the generation of a vascularized liver organoid[J]. *Hepatology: Baltimore, Md*, 2011, 53(2): 604-617.
- [80] DIETINGER V, GARCÍA de DURANGO CR, WIECHMANN S, BOOS SL, MICHL M, NEUMANN J, HERMEKING H, KUSTER B, JUNG P. Wnt-driven LARGE2 mediates laminin-adhesive O-glycosylation in human colonic epithelial cells and colorectal cancer[J]. *Cell Commun Signal*, 2020, 18(1): 102.
- [81] ZHOU Z, CONG L, CONG X. Patient-derived organoids in precision medicine: drug screening, organoid-on-a-chip and living organoid biobank[J]. *Frontiers in Oncology*, 2021, 11: 762184.
- [82] TAM PKH, WONG KKY, ATALA A, GIOBBE GG, BOOTH C, GRUBER PJ, MONONE M, RAFII S, RANDO TA, VACANTI J, COMER CD, ELVASSORE N, GRIKSCHHEIT T, de COPPI P. Regenerative medicine: postnatal approaches[J]. *Lancet Child Adolesc Health*, 2022, 6(9): 654-666.

(本文责编 陈宏宇)