

# 类器官技术及其在肿瘤研究中的应用

张华<sup>1</sup> 综述 刘艳荣<sup>2</sup> 审校

(<sup>1</sup> 济宁医学院临床医学院, 济宁 272013; <sup>2</sup> 济宁医学院附属医院, 济宁 272029)

**摘要** 类器官指利用成体干细胞或多能干细胞进行体外三维(3D)培养而形成具有一定空间结构的组织类似物。肿瘤组织来源的类器官可维持原发肿瘤组织的异质性,与其有高度相似的空间组织结构和对应组织器官功能,相对于传统二维细胞系培养和肿瘤组织异种移植,肿瘤组织来源的类器官保留了肿瘤的异质性,且在研究过程中维持了肿瘤组织的微环境,为肿瘤药物研发提供更真实的模型,使得肿瘤药物更快地应用于临床,真正实现肿瘤的个体化治疗,并且类器官的构建成功率明显增高,成本低、周期短。目前无论是患者的正常组织还是肿瘤组织,都可以实现高效的类器官建立,利用类器官技术建立的肿瘤相关模型可促进抗肿瘤药物的研发及精准医疗的发展,促进肿瘤从基础研究到临床实践的转化。本文概述了类器官技术在肿瘤研究中的优势及其在抗肿瘤药物研究中的应用。

**关键词** 肿瘤;类器官;药物;肿瘤研究模型

**中图分类号**:R73-3 **文献标识码**:B **文章编号**:1000-9760(2023)04-109-04

## Organoid technology and its applications in cancer research

ZHANG Hua<sup>1</sup>, LIU Yanrong<sup>2</sup>

(<sup>1</sup> School of Clinical Medicine, Jining Medical University, Jining 272013, China;

<sup>2</sup> Affiliated Hospital of Jining Medical University, Jining 272029, China)

**Abstract**: Organoids refer to tissue analogues with a certain spatial structure formed by three-dimensional (3D) culture of adult stem cells or pluripotent stem cells in vitro. Organoids derived from tumor tissue can maintain the heterogeneity of primary tumor tissue and have highly similar spatial structures and functions of corresponding tissues and organs. Compared with traditional two-dimensional cell line culture and tumor tissue xenotransplantation, organoids derived from tumor tissue retain the heterogeneity of tumor tissue and maintain the microenvironment of tumor tissue during the research process. It provides a more realistic model for the research and development of cancer drugs, makes cancer drugs more quickly applied in clinical practice, truly realizes the individualized treatment of cancer, and significantly increases the success rate of organoid construction with low cost and short cycle. At present, both normal tissues and tumor tissues of patients can realize efficient organoid establishment. Tumor-related models established by organoid technology can promote the research and development of anti-tumor drugs and the development of precision medicine, and promote the transformation of tumors from basic research to clinical practice. This paper summarizes the advantages of organoid technology in cancer research and its application in antitumor drug research.

**Keywords**: Tumor; Organoid; Drug; Tumor research model

恶性肿瘤(癌症)已成为全球范围内导致人口死亡的主要因素,是严重威胁中国人群健康的主要公共卫生问题之一。近年来,随着高通量测序技术与靶向药物疗法的发展,肿瘤相关的基础研究、转化医学以及临床研究方面均取得了突破性的进步。

然而,由于早期诊断率低以及尚缺乏有效治疗手段等原因,恶性肿瘤的整体生存率仍处于较低水平,且临床转化研究的高失败率使得抗肿瘤药物的创新发展十分有限。这些均表明恶性肿瘤的临床治疗以及抗肿瘤药物研发工作仍然任重而道远。

肿瘤来源的类器官是源自肿瘤组织或肿瘤特异性干细胞的三维组织细胞簇,它可模拟体内肿瘤的特征及肿瘤细胞异质性。利用类器官技术,可在

[基金项目]国家自然科学基金面上项目(81972629)

[通信作者]刘艳荣, E-mail: liuyanrong.1984@163.com

体外对肿瘤的发生发展规律进行研究,有望更加深入地了解肿瘤的发生发展机制、转移规律和耐药性,从而为精准医学的实现提供理论支持和实验手段。

## 1 类器官的概念及其在肿瘤研究中的优势

类器官是指利用成体干细胞或多能干细胞进行体外三维(3D)培养而形成的具有一定空间结构的组织类似物<sup>[1]</sup>。类器官作为肿瘤研究的模型,可以进行长期的培养、传代、冻存和复苏,与亲代组织在组织结构与功能上呈现出一致性。近年来类器官研究发展迅速,为恶性肿瘤的研究提供了新的方向。

肿瘤的发生发展是一个多阶段多步骤的复杂过程<sup>[2]</sup>,由于肿瘤基因、表观遗传等因素共同作用,使得肿瘤具有显著的异质性特征,即恶性肿瘤患者之间、同一患者的不同肿瘤之间,甚至是同一肿瘤的内部都存在着肿瘤异质性。据 FDA 统计,在临床前研究阶段具有治疗作用的新药,即便是进入并通过三期临床试验的药物,仅仅有 50% 的药物最终可以通过 FDA 的要求,用于临床<sup>[3]</sup>。因此,亟需寻找直接、准确、可靠的抗肿瘤药物敏感性检测的技术方法,提高抗肿瘤药物研发的成功率。

相比于传统 2D 培养和肿瘤组织异种移植,肿瘤类器官构建成功率明显提高,且可长期低成本快速培养,便于基因修饰和大规模药物筛选等;另外,3D 培养保留了肿瘤的组织学特性,在研究过程中不会完全丢失肿瘤微环境,为肿瘤药物研发提供更真实的环境。借助于肿瘤类器官与对应健康组织类器官库的建立对药物进行筛选,可获得对肿瘤有杀伤作用而对健康组织毒副作用较小的药物,应用于临床,可真正实现肿瘤的个体化治疗。

## 2 肿瘤类器官的建立

### 2.1 胃癌

由于胃癌异质性较强,传统的肿瘤模型已不能满足胃癌研究的需要,利用类器官研究模型,在研究胃癌病因学及靶向治疗的基础上,可发现更多特异性生物学标记物并对胃癌进行更为细致化的分型,同时开展靶向药物的临床疗效预测,对提高进展期胃癌的治疗效果有重要的转化医学意义。Seidlitz 等<sup>[4]</sup>建立了一个由 20 例胃癌患者来源的胃癌类器官组成的生物库,并对其中 4 例类器官进行了深入地分子分析。Nanki 等<sup>[5]</sup>建成了包含 37 个分子特征的胃癌类器官生物库,表明胃癌类器官技术再现了亲代肿瘤的组织学及基因学特征,可保

留患者特异的基因突变,为药物靶点的研究提供了机会。

### 2.2 结直肠癌

利用患者来源的结直肠癌组织培养类器官,可更好地模拟肿瘤进展及治疗反应,且结直肠癌患者来源的类器官在组织学亚型、分化层次、突变和转录组等方面与原发肿瘤具有显著的相似性<sup>[6]</sup>。结直肠癌类器官结合原位移植瘤模型可以更准确地模拟结直肠癌的进展及肝转移,对患者来源的结直肠癌类器官的蛋白质组分析显示,不同患者来源的类器官其蛋白质组具有显著差异,保留了肿瘤组织的异质性<sup>[7]</sup>。结直肠癌组织来源的类器官模型可在体外更加高效且真实地模拟肿瘤在体内的各方面特性,为基础研究及其向临床应用的转化提供了更加可靠的工具和桥梁。

### 2.3 肝癌

肝癌患者的预后较差,尽管器官移植、手术切除以及化疗药物的应用已经取得了很大的进展,但由于缺乏肝脏供体及肿瘤的异质性,肝癌患者的预后并没有得到很大的改善<sup>[8]</sup>。目前已实现了对不同病因及分期的肝癌患者来源的类器官的培养。肝癌类器官不仅保留了亲代肝癌的组织学形态及标志物,并且保留了亲代肿瘤的遗传异质性<sup>[8]</sup>。肝癌器官的培养,为肝癌的研究提供了可靠的模型基础。

### 2.4 胰腺癌

胰腺癌类器官目前已成功实现体外培养,并已建立人类胰腺癌类器官样本库<sup>[9]</sup>,应用于胰腺癌进展和耐药性的研究。Shi 等<sup>[10]</sup>通过构建胰腺肿瘤类器官和正常胰腺组织类器官,首次系统性揭示胰腺癌的染色质开放性特征,并通过整合基因组学、转录组学和药物敏感性等数据提出不同亚型胰腺癌的基因调控网络及潜在治疗靶点。胰腺癌患者较差的预后与其恶性生物学行为密切相关,因此,建立理想的胰腺癌类器官模型,模拟胰腺癌细胞的恶性转化、浸润、侵袭、远处转移等病理过程,探索其关键分子机制,对改善其诊治策略及患者预后具有重要意义。

### 2.5 乳腺癌

Lewis 等<sup>[11]</sup>收集了 155 例乳腺癌组织,建立了 95 例乳腺癌患者来源的类器官生物样本库,包括转移性和原发性乳腺癌,并证实了类器官再现了亲代肿瘤组织的组织学特征,保留了乳腺癌生物标志物的表达,维持了肿瘤的异质性。乳腺癌类器官的成功建立为人们更好地探究乳腺癌发生发展的机

制提供了一种非常有前景的新模型。相信未来通过结合基因组分析和药物筛选的类器官研究能够为乳腺癌患者提供更加有利的治疗方案。

## 2.6 肺癌

尽管近年来肺癌的研究进展迅速,但其发病率和死亡率仍然较高。肺癌患者来源的类器官,可以更好地模拟亲代肿瘤组织,有助于肺癌发病机制的研究和抗肿瘤药物的筛选。Shi 等<sup>[12]</sup>成功培养了来源于非小细胞肺癌患者的类器官样本,并且证明了这些类器官样本保留了其亲代肿瘤的组织学和分子特征。Kim 团队<sup>[13]</sup>建立了 162 例肺癌患者来源的类器官,并通过药物实验证实了类器官为晚期肺癌患者靶向药物的治疗及化疗提供了一个个性化的平台。

## 2.7 其他肿瘤类型

近年来,研究者们通过患者来源的肿瘤组织,建立了多种肿瘤类型的类器官,如前列腺癌<sup>[14]</sup>、甲状腺癌<sup>[15]</sup>、食管癌<sup>[16]</sup>、肾癌<sup>[17]</sup>等。证实了肿瘤组织来源的类器官保留了亲本肿瘤组织的组织学结构、基因突变和转录谱特征,促进了肿瘤研究的进展。

## 3 类器官技术在肿瘤研究中的应用

### 3.1 类器官与肿瘤发生发展机制研究

某些病原体与恶性肿瘤的发生发展密切相关,例如:胃癌中的幽门螺杆菌(HP)、肝癌中的乙型肝炎病毒(HBV)<sup>[18]</sup>、鼻咽癌和淋巴瘤中的 EB 病毒(EBV)。然而,病原体对肿瘤的致病机制目前仍不清楚。通过 HP 感染胃组织来源的类器官,进行类器官与 HP 的共培养,可发现由 HP 感染诱导胃癌发生的信号级联通路和特异性标志物<sup>[18]</sup>。此外,HBV 与肝类器官<sup>[19]</sup>等共培养系统也有助于揭示 HBV 病原体对肝癌的致病机制,并寻找潜在的抗肿瘤靶点。

### 3.2 类器官与抗肿瘤药物研究

肿瘤类器官可以作为评估肿瘤患者对抗肿瘤药物疗效的可靠模型<sup>[20-21]</sup>。患者来源的肿瘤类器官对放化疗的敏感性与患者的治疗反应一致<sup>[22]</sup>。此外,利用肿瘤类器官,可探究肿瘤耐药患者的肿瘤组织所产生的基因改变。目前已经建立了肿瘤患者来源的类器官生物库,用于药物筛选以及新药物的研发和测试<sup>[23]</sup>。在预测化疗反应方面,肿瘤组织来源的类器官准确性远高于基因测序方案和循证医学方案,能够精准预测临床药物反应<sup>[24]</sup>。

## 4 小结与展望

目前国内外已逐渐认识到肿瘤类器官模型的重要性,但大部分的研究仍然处于实验室研究阶段,尚未实现真正的临床应用。此外,肿瘤类器官作为模拟肿瘤原发组织的重要体外模型,尚存在许多不足之处。首先,类器官并不能完全复制其来源肿瘤组织,不包含其周围的间充质、免疫细胞以及神经系统等微环境。因此,未来还需通过增加肿瘤微环境中的其他的细胞类型(如免疫细胞、基质细胞或神经细胞)与类器官进行共培养,以更好地模拟肿瘤微环境<sup>[25]</sup>。其次,类器官的培养技术需要建立更加标准化的流程,以提高检测结果的可重复性。部分类器官尚无法实现长期扩增且生长速度较慢,并且类器官的培养过程较复杂,不同的肿瘤类器官模型,其培养基中添加的生长因子及生长环境等均存在一定差异,未来需要进一步实现培养流程的标准化;此外,肿瘤组织的取样也需要标准化,初始的样本量及细胞质量直接决定了类器官培养的成功率,未来可以探索类器官培养环节中增强技术操作的自动化,尽可能减小误差,提高类器官培养技术的可重复性。在类器官模型的鉴定中,可通过利用人工智能手段对类器官的活性、大小等主要参数进行评估,保证类器官的有效性。

综上所述,建立标准化、质量稳定、肿瘤表型信息完整的肿瘤组织来源的类器官样本库,并应用于抗肿瘤新药研发和临床肿瘤患者的个体化治疗,将为抗肿瘤新药研发提供可靠的模型保证,为临床抗肿瘤药物敏感性的检测提供快速、准确的技术手段,提高恶性肿瘤治疗的有效率,延长肿瘤患者的生存时间,该技术的成功应用和推广将为众多的肿瘤患者及家庭带来福音。

利益冲突:所有作者均申明不存在利益冲突。

## 参考文献:

- [1] Sato T, Clevers H. Growing self-organizing mini-guts from a single intestinal stem cell: Mechanism and applications [J]. *Science*, 2013, 340 ( 6137 ): 1190-1194. DOI: 10. 1126/science. 1234852.
- [2] Hamidi H, Ivaska J. Every step of the way: Integrins in cancer progression and metastasis [J]. *Nat Rev Cancer*, 2018, 18 ( 9 ): 533-548. DOI: 10. 1038/s41568-018-0038-z.
- [3] Ledford H. Translational research: 4 ways to fix the clinical trial [J]. *Nature*, 2011, 477 ( 7366 ): 526-528. DOI: 10. 1038/477526a.

- [4] Seidlitz T, Merker SR, Rothe A, et al. Human gastric cancer modelling using organoids [J]. *Gut*, 2019, 68(2):207-217. DOI:10.1136/gutjnl-2017-314549.
- [5] 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.
- [6] Álvarez-Varela A, Novellasdemunt L, Barriga FM, et al. Mex3a marks drug-tolerant persister colorectal cancer cells that mediate relapse after chemotherapy [J]. *Nat Cancer*, 2022, 3(9):1052-1070. DOI:10.1038/s43018-022-00402-0.
- [7] Betge J, Jackstadt R. From organoids to bedside: Advances in modeling, decoding and targeting of colorectal cancer [J]. *Int J Cancer*, 2023, 152(7):1304-1313. DOI:10.1002/ijc.34297.
- [8] Chen L, Wei X, Gu D, et al. Human liver cancer organoids: Biological applications, current challenges, and prospects in hepatoma therapy [J]. *Cancer Lett*, 2023: 216048. DOI:10.1016/j.canlet.2022.216048.
- [9] Frappart PO, Walter K, Gout J, et al. Pancreatic cancer-derived organoids—a disease modeling tool to predict drug response [J]. *United European Gastroenterol J*, 2020, 8(5):594-606. DOI:10.1177/2050640620905183.
- [10] Shi X, Li Y, Yuan Q, et al. Integrated profiling of human pancreatic cancer organoids reveals chromatin accessibility features associated with drug sensitivity [J]. *Nat Commun*, 2022, 13(1):2169. DOI:10.1038/s41467-022-29857-6.
- [11] Lewis SM, Callaway MK, Dos Santos CO. Clinical applications of 3D normal and breast cancer organoids: A review of concepts and methods [J]. *Exp Biol Med (Maywood)*, 2022, 247(24):2176-2183. DOI:10.1177/15353702221131877.
- [12] Shi R, Radulovich N, Ng C, et al. Organoid cultures as preclinical models of non-small cell lung cancer [J]. *Clin Cancer Res*, 2020, 26(5):1162-1174. DOI:10.1158/1078-0432.Ccr-19-1376.
- [13] Kim J, Minna JD. Moving toward precision medicine with lung cancer organoids [J]. *Cell Rep Med*, 2023, 4(2):100952. DOI:10.1016/j.xcrm.2023.100952.
- [14] Karkampouna S, La Manna F, Benjak A, et al. Patient-derived xenografts and organoids model therapy response in prostate cancer [J]. *Nat Commun*, 2021, 12(1):1117. DOI:10.1038/s41467-021-21300-6.
- [15] Ogunidipe VML, Plukker JTM, Links TP, et al. Thyroid gland organoids: Current models and insights for application in tissue engineering [J]. *Tissue Eng Part A*, 2022, 28(11-12):500-510. DOI:10.1089/ten.TEA.2021.0221.
- [16] Fan N, Raatz L, Chon SH, et al. Subculture and cryopreservation of esophageal adenocarcinoma organoids; Pros and cons for single cell digestion [J]. *J Vis Exp*, 2022, (185). DOI:10.3791/63281.
- [17] Li Z, Xu H, Yu L, et al. Patient-derived renal cell carcinoma organoids for personalized cancer therapy [J]. *Clin Transl Med*, 2022, 12(7):e970. DOI:10.1002/ctm2.970.
- [18] Ku CC, Wuputra K, Pan JB, et al. Generation of human stomach cancer iPSC-derived organoids induced by helicobacter pylori infection and their application to gastric cancer research [J]. *Cells*, 2022, 11(2):184. DOI:10.3390/cells11020184.
- [19] Dong R, Zhang B, Zhang X. Liver organoids: An in vitro 3D model for liver cancer study [J]. *Cell Biosci*, 2022, 12(1):152. DOI:10.1186/s13578-022-00890-8.
- [20] Wensink GE, Elias SG, Mullenders J, et al. Patient-derived organoids as a predictive biomarker for treatment response in cancer patients [J]. *NPJ Precis Oncol*, 2021, 5(1):30. DOI:10.1038/s41698-021-00168-1.
- [21] Driehuis E, Kretschmar K, Clevers H. Establishment of patient-derived cancer organoids for drug-screening applications [J]. *Nat Protoc*, 2020, 15(10):3380-3409. DOI:10.1038/s41596-020-0379-4.
- [22] Lv T, Shen L, Xu X, et al. Patient-derived tumor organoids predict responses to irinotecan-based neoadjuvant chemoradiotherapy in patients with locally advanced rectal cancer [J]. *Int J Cancer*, 2023, 152(3):524-535. DOI:10.1002/ijc.34302.
- [23] Campaner E, Zannini A, Santorsola M, et al. Breast cancer organoids model patient-specific response to drug treatment [J]. *Cancers (Basel)*, 2020, 12(12):3869. DOI:10.3390/cancers12123869.
- [24] Napoli GC, Figg WD, Chau CH. Functional drug screening in the era of precision medicine [J]. *Front Med (Lausanne)*, 2022, 9:912641. DOI:10.3389/fmed.2022.912641.
- [25] Du X, Dong Y, Li W, et al. hPSC-derived lung organoids: Potential opportunities and challenges [J]. *Heliyon*, 2023, 9(2):e13498. DOI:10.1016/j.heliyon.2023.e13498.

(收稿日期 2022-09-23)

(本文编辑:石俊强)