

# 类器官芯片在疾病体外模型中的应用

王丽<sup>1</sup>, 骆沙曼<sup>1</sup>, 张森<sup>2</sup>, 魏文博<sup>2\*</sup>, 邱君君<sup>3\*</sup>

1. 复旦大学生物医学研究院, 上海 200032

2. 深圳大学第一附属医院; 深圳市第二人民医院, 深圳 518035

3. 复旦大学附属妇产科医院, 上海 200011

**摘要** 类器官芯片是利用器官芯片独有的优势, 体外构建类器官可控的理化微环境, 使得类器官更能反应来源组织器官的结构和功能, 从而更好地模拟器官的生理和疾病状态, 是目前最具潜力的疾病体外模型之一。概述了传统类器官、器官芯片以及类器官芯片在疾病体外模型构建中的应用进展, 提出了类器官芯片在疾病模型构建中存在的问题及可能解决的方案。

**关键词** 器官芯片; 类器官芯片; 微流控; 疾病模型; 个性化治疗

人类对疾病机制的深入认知是预防和治疗疾病的关键。生命科学、基础和临床医学的快速发展, 在一定程度上使得人们对于疾病的病因学、疾病的发生发展有了更深的认识和了解。但是, 大部分疾病的发生发展是多细胞、多组织、多器官相互作用、相互调节的极其复杂的过程。随着人们生活习惯、周围环境的改变以及人体自身基因组存在的不稳定性、复杂性等问题, 疾病的发生发展也是一个动态变化的过程。这要求生命科学及医学研究和临床工作者对疾病的发病机制研究具有辩证和与时俱进的思维。

对疾病病因学和机制的研究需要合适的体内

外模型。尽管临床病人是最可靠的疾病研究的对象, 但是由于伦理学以及其他无法直接从活的人体获取样本的限制, 亟需开发其他稳定、可靠、可重复的体外和体内模型, 替代以人为研究对象的疾病模型。传统的体外疾病模型主要包括细胞模型, 培养方式主要是二维(2D)静态<sup>[1-2]</sup>。这种方式培养的细胞能够维持细胞的部分生物学功能, 但缺乏体内多细胞相互作用、细胞-细胞外基质(ECM)以及理化刺激等多种必要微环境因素, 使得单一的细胞静态培养无法真实模拟人体组织器官的生理和病理状态。同时, 动物模型, 包括斑马鱼、果蝇、鼠类以及兔、狗、猴子等, 虽然可以模拟多细胞、多组织器官

收稿日期: 2022-05-20; 修回日期: 2022-06-15

基金项目: 国家自然科学基金项目(31901072, 81703470); 广东省自然科学基金项目(2022A1515011456)

作者简介: 王丽, 副研究员, 研究方向为类器官与器官芯片技术开发及应用, 电子信箱: wangljib@fudan.edu.cn; 魏文博(通信作者), 助理研究员, 研究方向为微流控与器官芯片技术在生物医学工程领域应用, 电子信箱: wwb1004@hotmail.com; 邱君君(共同通信作者), 副主任医师, 研究方向为妇科肿瘤, 电子信箱: qiu junjun1113@163.com

引用格式: 王丽, 骆沙曼, 张森, 等. 类器官芯片在疾病体外模型中的应用[J]. 科技导报, 2022, 40(12): 42-52; doi: 10.3981/j.issn.1000-7857.2022.12.004

等相互作用的生理和病理过程,但是由于种属和遗传背景差异性以及动物伦理学等限制,使得对发生在人类身上的疾病,难以在动物身上完全再现,甚至还会得出与人体疾病相悖的结论。此外,基因编辑等新技术以及大型动物模型也存在周期长,费用高等问题,在一定程度上限制了相应的应用推广<sup>[3-4]</sup>。因此,以正常或者病人来源的细胞或组织为研究对象,体外构建具有与人体组织器官相似的结构和功能特征的模型是疾病研究的重要领域,其中类器官和器官芯片是有望解决上述难题的最具潜力的技术。

类器官(organoid)是由多能干细胞和成体干/前体细胞在体外通过细胞自组装等方式形成的包含多种细胞组分、具有源组织器官的结构和功能特点的“迷你”器官。在模拟人体组织器官发育、机体稳态、疾病机制研究和药物开发等领域逐渐展示其巨大的应用前景<sup>[5-8]</sup>。目前,类器官培养方式主要包括基质胶包埋、悬浮动态培养手段,通过在适宜的培养基中添加营养物质和特定的生长因子等,实现促进细胞的分裂增殖、定向分化以及空间结构的形成<sup>[9-11]</sup>。保证类器官在特定的培养系统中既要维持干细胞的自我更新,也要保证分化细胞维持特定的结构和功能。然而,这种自组装方式形成的类器官仍然缺乏可控的理化微环境条件,例如:心血管系统存在的机械力和流体刺激,分化相关因子的局部浓度梯度的形成,营养物质和代谢物的交换等。

产生的类器官大小不一,细胞成分不稳定,缺乏血管、免疫细胞、神经和内分泌调节,甚至丢失成熟器官部分生物功能等。这些不足也导致类器官在疾病模型中缺乏一定的可控性和稳定性,无法真实反映疾病发病过程<sup>[12]</sup>。

器官芯片(Organ-on-a-chip)是近10年来迅速发展起来的变革性新技术。它基于微流控芯片技术在体外模拟人体组织器官功能单元的微型细胞/组织培养载体,包括功能单元必须的基本元件和元素,如多细胞组分、细胞外基质、微环境理化因素等<sup>[13-18]</sup>。器官芯片可以弥补现有细胞培养方式的不足,具有传统方法无法比拟的优势:包括三维动态培养、可控的理化刺激、成本低、通量高、可靠性强等。同时,器官芯片结合成像仪器实时监控细胞生物学变化等,更好地记录细胞在疾病状态下的行为学变化以及对药物反应的全过程。

将器官芯片与类器官相整合而形成的类器官芯片技术利用芯片载体的优势弥补类器官培养方式的不足,促进类器官结构更仿生,功能更成熟,实现多器官相互作用等,使得类器官的疾病模型更具有人类疾病的特征(图1)。因此类器官芯片作为人类疾病模型更具发展潜力和应用前景<sup>[19-22]</sup>。随着类器官芯片技术的不断发展完善,研究者可以构建出集成度与仿真度更高的人体芯片,为疾病研究提供了新的技术手段和平台。

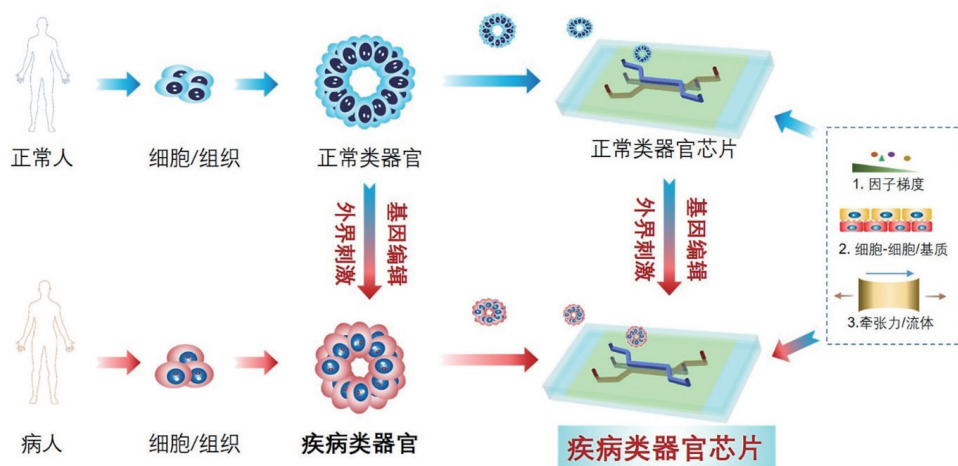


图1 类器官芯片疾病模型构建方法

## 1 类器官疾病模型

类器官是类器官芯片构建的主要研究对象,也是构建疾病模型的核心部分。目前,类器官疾病模型细胞来源主要有4种:(1)病人疾病组织,如肿瘤等直接形成疾病状态的类器官;(2)正常组织来源的类器官,体外再经过理化因素刺激后形成具有病理特征的类器官,如正常肠类器官经过炎症因子作用后模拟肠炎模型;(3)健康人来源的诱导性多潜能干细胞(iPSCs)经过特定致病基因编辑或理化刺激等,体外诱导为具有病理特征的疾病模型;(4)病人来源的iPSCs体外直接定向分化为具有某一病理特征的类器官。

肿瘤病人来源的类器官(patient-derived organoids, PDOs)是目前成功构建种类较多的疾病模型,并在药物开发、个性化治疗等领域展示了巨大的发展潜力。目前已经培养的肿瘤类器官包括肺癌、肠癌、胃癌、卵巢癌等<sup>[23-28]</sup>。体外培养的肿瘤来源的类器官在表型和基因组学上与其来源的肿瘤组织有高度的相似性。Vlachogiannis等<sup>[29]</sup>研究人员分离培养患者来源的结肠癌和胃癌类器官,经过形态学鉴定、标志物检测、基因突变谱分析以及与移植瘤体内模型对药物反应的对比,发现PDOs与人体原始肿瘤组织以及动物实验具有高度相似性。其中,对药物反应的敏感性达到100%,特异性93%,阳性预测值88%,阴性预测值100%。尽管这一研究的预期结果振奋人心,然而由于样本例数有限,尚需更多的实验数据去验证。Clevers课题组<sup>[30]</sup>从32个卵巢癌患者不同病灶处成功构建56株类器官系,在维持原始生物学特性的前提下实现类器官体外长期传代培养。在细胞核和细胞的非典型性、生物标志物(p53、PAX8)等组织形态学、基因组水平、复发的突变点和异质性等方面,与原始组织也具有高度相似性。对同一个患者初发样本来源的类器官和该患者经过铂类化疗后耐药类器官进行药物毒性实验,发现复发来源的类器官对化疗药物产生了抵抗性。不同高浆液性卵巢癌(high grade serous carcinoma, HGSC)患者来源的类器官对单一药物

的反应不同。这些结果提示,PDOs不仅用于研究卵巢癌发生发展的机制,也可用于临床个性化精准治疗的体外模型。

利用正常体细胞成功构建了多种类器官,包括肠、肺、肝、乳腺等类器官<sup>[31-34]</sup>。这些类器官无论在生理结构还是组织功能上,都与源器官具有一定的相似性,可以广泛应用于组织器官发育学研究、再生医学、毒性测试和药物开发等领域。此外,对于某些疾病无法获得疾病状态的类器官,也可以通过正常组织类器官培养后,在体外经过基因编辑和异常刺激构建具有特定病理特征的类器官,如病毒细菌感染等炎症病理模型<sup>[35-37]</sup>。研究显示hPSC来源的肺泡类器官被新型冠状病毒SARS-CoV-2感染后,主要表现为病毒侵袭到II型肺泡上皮细胞内。该细胞可以用来反应宿主的免疫反应引起的炎症表型,激活NF- $\kappa$ B通路,部分成熟肺泡细胞群丢失等现象<sup>[38-39]</sup>。

多能干细胞和成体干/前体细胞也是构建类器官的主要细胞来源之一,经过研究者的努力已经构建多种疾病模型。这些干细胞主要来源于正常或患者的胚胎干细胞(hESCs)以及成体细胞(如血液细胞或成纤维细胞等)体外重编程为诱导性多潜能干细胞(iPSCs),经过体外定向诱导分化为特定的具有疾病特征的类器官,用于研究疾病发病机制。如iPSCs来源的小脑畸形类器官模型,非酒精性脂肪肝炎(NASH)类器官模型等<sup>[40-42]</sup>;或直接来源于病变组织的干/前体细胞,体外经过自组装等方式形成具有特定病理特征的类器官,如肺、肠类器官等<sup>[43-44]</sup>。

传统的细胞模型以构建成熟的永生细胞系为主。这些细胞系经过长期的传代,逐渐丢失原始细胞的生物学特征,缺乏异质性。而组织器官的病理改变通常涉及到多种细胞,甚至是多个组织器官。现以常用的永生细胞系构建的疾病模型来研究病因学、发生发展机制以及进行药物开发,无法真实模拟人体内的病理过程。因此,上述人来源的类器官培养技术,可以为疾病机制研究提供更为可靠,更接近生理和病理特点的方法和模型。

## 2 器官芯片病理模型

器官芯片是以微流控为核心技术,集物理、化学、生物、材料、机械加工、自动化、医学等多领域的交叉学科。早期的器官芯片主要是利用成熟的细胞系为研究对象,在微流控芯片载体上构建人体组织器官功能单元的微生理系统(microphysiological system, MPS),如肺、肝、肾、肠等单一器官芯片模型<sup>[45]</sup>。随着对器官芯片的灵活设计,成功构建了肝-肠,肝-肠-肺-脑-心-皮肤-肾-血脑屏障等多器官芯片模型<sup>[46-48]</sup>。在这些模型中,根据人体组织器官功能单元的特点以及多器官相互作用,引入了流体、压力、牵张力、化学梯度等不同的理化刺激。单一器官芯片到多器官芯片模型的成功构建,为疾病机制研究、药物开发等打开了新的思路。

初期器官芯片模型以模拟生理结构和功能为主。在此基础上逐渐过渡到病理过程的模拟。目前已有器官芯片病理模型是基于肺芯片、肠芯片、肝芯片、肾芯片等生理模型。以肺芯片为例构建的肺功能单元包括肺泡的气-血屏障和肺气管单元。该芯片核心组成是2个上下独立的细胞培养通道以及侧壁的2个气路通道。上下培养通道由孔径在8~10  $\mu\text{m}$ 的弹性多孔膜分隔,细胞培养在膜的两侧,通过多孔结构进行细胞相互作用和物质交换。上通道培养肺上皮细胞用于模拟肺泡腔,通入空气;下层通道膜侧培养血管细胞,灌注流体,模拟肺泡气体交换的血管侧。上皮细胞通过下层的流体进行营养物质吸收和排出代谢物。通过两侧的气路实现周期性的多孔膜牵拉,模拟肺泡的呼吸运动。在该肺气管模型中,施加生理条件刺激,上皮细胞极化,与空气接触的细胞出现肺纤毛摆动等生理表现。以此为基础,根据不同疾病的特点进行芯片结构的微调,以及选择不同的细胞,建立多种肺部疾病模型,包括肺水肿、血栓、非小细胞肺癌、病毒感染(SARS-CoV-2、influenza、中东呼吸综合征冠状病毒MERS-CoV)、炎症等<sup>[49-52]</sup>。该模型经过改进,引入气管上皮细胞构建肺气管单元,用于模拟慢性阻塞性肺疾病(COPD)、囊性纤维化、病毒感染(SARS-CoV-2、influenza、人冠状病毒-NL63)、炎症

等疾病的病理过程<sup>[53-55]</sup>。所发生的炎症反应和纤毛摆动的异常改变与临床病人具有高度一致性。在肺芯片的各种病理模型中,可以从细胞水平进行实时、高清晰的观察和监测,这在动物和人体病理过程中很难实现。

肝脏是重要的代谢和解毒器官。多款肝芯片模型可用于模拟药物代谢、药物互作、肝毒性、炎症和感染等病理过程。在肝器官芯片模型中,从最初简单的一种肝细胞培养到肝细胞-肝星形细胞-肝窦内皮细胞-Küpf er细胞多种细胞共培养模拟肝窦的功能单元,结构和功能都更接近体内肝脏器官<sup>[56]</sup>。利用肝芯片模型模拟乙型肝炎病毒(HBV)感染的过程中,可以重现临床病人HBV感染的过程和周期,同时天然免疫和细胞因子的表达也与人体感染过程相似<sup>[57]</sup>。这些模拟的病理过程在传统的2D静态培养细胞系中几乎是无法实现的。

肾脏的主要功能单元包括肾小球滤过单元和肾小管重吸收单元。Wang等<sup>[58]</sup>利用器官芯片技术构建肾小球芯片模型,包括3条微通道,通道之间通过微小结构联通。利用微结构捕获原代大鼠肾小球组织(包含足细胞和血管内皮细胞),利用细胞-细胞外基质相互作用,实现细胞外基质-足细胞-内皮细胞复杂功能单元。并利用该模型成功模拟了糖尿病肾病的病理过程。此外,有研究显示利用肾器官芯片来模拟高血压引起的肾小球损伤的病理过程<sup>[59]</sup>。通过3D打印技术构建动态可灌注的管样结构,将人器官特异的细胞和ECM水凝胶灌注到不同的微型管道中,模拟人远端肾小管结构,以及肾小管和微血管的界面,模拟肾小管的重吸收功能,该模型的构建满足了体外模拟肾毒性和高血糖引起肾脏疾病的需求<sup>[60]</sup>。

单一器官芯片模型在疾病模拟和机制研究方面与传统细胞模型相比较展现了前所未有的优势,在许多功能方面是传统细胞培养技术无法实现的。但是针对某些疾病具有多器官累及的特点,以及药物在人体治疗过程中存在吸收、传递、代谢、排泄、毒性等涉及多器官相互作用,多器官评价等,需要从整体水平去评估。多器官芯片应运而生<sup>[61-63]</sup>。多器官芯片模型从最初2个器官,逐渐增加到10个

器官复杂系统,功能更强大,不仅实现了多个器官来源的细胞长期共培养,也可以在同一个芯片上评估药物的代谢、毒性和药效等。

免疫系统包括多种免疫细胞和组织器官,如血液当中各种淋巴细胞、淋巴结、脾脏等器官。淋巴细胞在主要脏器中发挥重要的生理作用。同时疾病的发生大多有免疫细胞的参与,且累及多个组织器官。构建具有免疫因素在内的多器官芯片系统模拟免疫相关的病理过程,有望部分以及逐步替代人源化工程小鼠等动物模型。有研究显示,在单核细胞(THP-1)参与的心肌-骨骼肌-肝多器官芯片系统中,实现免疫细胞在多个器官中循环流动,在炎症因子等刺激下模拟人体的多种炎症相关的疾病<sup>[64]</sup>。结果显示,THP-1选择性浸润到胺碘酮损伤的心肌细胞单元,没有引起肝、骨骼肌的免疫损伤。而在可引起全身免疫反应的脂多糖(LPS)和干扰素- $\gamma$ (IFN- $\gamma$ )刺激下,THP-1引起的免疫反应无选择性的损伤了肝、骨骼肌和心肌细胞。同时,THP-1在2种类型的刺激下,发生M1和M2不同的分化形式,且分泌的前炎症因子也有很大差别。该模型未来也可以用于多种免疫治疗如单克隆抗体、疫苗、基因治疗的疗效评价,以及药物的药代动力学/药效动力(PK/PD)评估。

除此以外,还有多种功能不同的多器官芯片模型,如肝-肠、肝-肾、肝-心-乳腺-骨髓-肿瘤、肝-肠-肾-骨髓等。多器官芯片主要应用于器官间相互作用和调节研究、药物的代谢、毒性评价、癌症药效评价等<sup>[65-69]</sup>。多器官集成的人来源的细胞种类越多,功能越全面,就越接近人体,未来的人体芯片有望替代部分动物实验,成为更可靠的药物临床前研究的体外模型。

### 3 类器官芯片在疾病模型中的应用

类器官与器官芯片是药物临床前研究的最有潜力的体外模型。类器官是基于干细胞、前体细胞和成体细胞的内在特点,在外来以及自身分泌的多种形态原(morphogens)的作用下自组装形成的3D多细胞微小组织,与源器官具有类似的结构和功能

单元。但这种方式无法精确控制类器官发育和局部微环境,缺乏特定的生化和物理刺激,因此大部分类器官发育不成熟,功能不全,缺乏血管化结构,无法构建结构复杂、功能完善的体外模型。器官芯片以工程化的手段在微流控芯片上创造出包括多细胞、组织-组织界面、可控流体灌注、理化因素参与等复杂微环境成分,具有高集成、高通量、多种传感器实时监测、集成成像器件实时观察等优势。这些优势可以弥补类器官技术的不足,促进类器官结构更仿生和功能成熟,提高类器官疾病模型的可靠性和真实性。

器官芯片的优势之一是可以形成可控的生化分子的浓度梯度,这在组织器官发育是比较常见的生理现象。研究者利用一对微通道结合包含ESC的水凝胶形成sonic hedgehog(Shh)和骨形成蛋白(BMP)相对稳定的浓度梯度,在该梯度的作用下,ESC通过自分泌和外界刺激的作用下,自组装并分化成运动神经元,形成与体内相似的神经管样结构<sup>[70]</sup>。另有研究小组构建了小肠的功能单元“肠隐窝-绒毛”结构。该结构的正常生理状态表现为肠隐窝内的干细胞以及干细胞分化细胞沿隐窝-绒毛轴运动覆盖到绒毛表面进行更新。这一过程需要生长因子和形态原的浓度梯度引导。通过微加工方法构建具有微孔和柱形微结构的胶原支架,在支架上面培养人小肠上皮细胞,形成小肠的隐窝-绒毛结构促进细胞谱系空间区域化分布,该模型近生理的模拟人体小肠功能单元的生物物理、化学梯度以及细胞外基质等多种元素<sup>[71]</sup>。

#### 3.1 肠类器官芯片疾病模型

胃、肠等类器官,是利用组织来源的干/前体细胞在基质胶内形成多细胞囊状结构的微型组织。但是正常人体肠道组织功能单元的微环境包括肠道平滑肌舒缩产生的蠕动,以及食物在局部产生的流体样的剪切力等机械力刺激,传统类器官培养微环境无法满足这些生理条件。Shin等<sup>[72]</sup>利用正常和疾病来源的类器官,结合器官芯片技术构建肠黏膜界面芯片(physiodynamic mucosal interface-on-a-chip, PMI Chip)。该芯片由3层结构组成,芯片上下层由2个独立的弯曲如小肠结构的通道,中间层

由 20  $\mu\text{m}$  厚的多孔膜分隔开, 两侧通道利用抽真空的原理实现对膜的拉伸, 模拟小肠的蠕动。在上下层通道灌注流体, 模拟小肠黏膜界面的流体剪切力等机械力刺激。在该仿生的小肠类器官芯片模型上不仅模拟正常小肠生理环境, 也模拟了多种疾病, 包括克罗恩病 (Crohn's disease)、溃疡性结肠炎、结肠癌。此外, 在低氧环境下, 肠细胞与人粪便来源的细菌共培养, 形成随机的菌落来模拟肠道细胞与菌群的共生微环境。这种病人来源的类器官芯片模型, 近生理的模拟人体小肠的流体剪切力、机械牵张力、厌氧等动态微环境, 为各种肠道疾病机制研究提供了更加真实的可靠的体外模型。

### 3.2 胰腺类器官芯片疾病模型

囊性纤维化 (cystic fibrosis, CF) 病理改变发生在多种重要脏器, 如肺、胰腺、胃肠道等。其中囊性纤维化跨膜转运调节因子 (CFTR) 缺陷是导致囊性纤维化的主要原因。Mun 等<sup>[73]</sup> 研究者利用 CFTR 缺陷病人来源的胰腺导管上皮细胞 (PDECs) 和胰岛构建胰腺类器官芯片用于模拟胰腺囊性纤维化病变。该芯片设计包括 2 个空间相对独立的通道, 通过中间的多孔膜相互联通。在上层通道多孔膜上接种单层 PDECs 模拟胰腺导管, 在下层接种 3D 胰岛类器官, 实现两者共培养。该芯片设计与人体胰腺组织中胰岛和导管的的空间位置关系相似, 适合研究导管与胰岛之间的相互作用。结果显示抑制 PDECs 的 CFTR 功能, 明显减少胰岛分泌胰岛素。CF 患者来源的胰腺导管类器官中有部分 CFTR 功能损伤。芯片上共培养 PDECs 和胰岛类器官, 抑制 CFTR 功能影响胰岛的内分泌功能, 胰岛素分泌在病人来源的类器官芯片模型中减低, 但没有统计学意义。这说明 CFTR 对胰岛功能具有调节作用, 一旦损伤, 该调节功能将受损。该疾病模型提供了胰岛内分泌功能受临近胰腺导管上皮细胞调控的直接证据。

### 3.3 脑类器官芯片疾病模型

hiPSCs 来源的脑类器官可以模拟胎儿早期大脑的发育过程。目前结合器官芯片技术构建多种 hiPSCs 来源的脑类器官芯片病理模型, 如模拟胎儿脑发育过程中因为母体受到烟草、药物等外界刺激

导致胎儿脑发育异常的病理过程<sup>[74-75]</sup>。该脑类器官芯片模型可实现原位 hiPSCs 模拟胚体形成和分化, 同时灌注微流体模拟人体血管的营养供给和外界物质的刺激等过程, 实现类脑的长期培养以及外界的慢性刺激。该芯片可以实时观察脑发育的整个过程, 也可以结合常规组织学和分子生物学的方法研究病理分子机制。

### 3.4 视网膜类器官芯片疾病模型

hiPSCs 来源的视网膜类器官为眼部疾病研究提供了重要的细胞来源。Achberger 等<sup>[76]</sup> 成功将 hiPSCs 诱导分化为视网膜类器官 (retinal organoids, ROs), 诱导过程耗时 180 多天。类器官包含了多种细胞成分 (感光细胞、神经节细胞、水平细胞、双极细胞、光感受器内外结连接、视锥-视杆混合细胞群)。这些细胞成分和空间排布与体内相似。为了进一步模拟人视网膜的真实组织解剖学上的微结构, 结合器官芯片技术, 构建了双层培养腔室的视网膜类器官芯片。上下两层由半透明的多孔膜分隔, 下层是微流体通道模拟血管进行营养物质交换和代谢物排出。上层有 4 个微型培养小室, 在小室的膜侧预先培养视网膜色素上皮细胞 (RPE), 形成贴壁单层后, 将含有 ROs 的水凝胶灌注到 RPE 上面形成 ROs 的 3D 培养微环境。在该培养体系下, RPE 具有更加明显的极化、色素化, 可以表达 RPE 标志物。RPE 和 ROs 共培养促进外结连接样结构形成。RPE 在模拟关键功能性的视觉周期中发挥主要作用。此外, 研究者利用视网膜类器官芯片建立了抗疟疾药物 (奎宁) 和抗生素 (庆大霉素) 2 种药物引起的视网膜病变模型。研究显示奎宁 (80  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) 引起视网膜类器官细胞死亡以及溶酶体功能失调, 表现为 LAMP2 表达增多, 与 RPE 比较在 ROs 上更为显著。与 RPE 共培养比较, 在无 RPE 的芯片上庆大霉素引起的 ROs 细胞死亡更为明显。该病理模型说明 RPE 在药物引起的视网膜类器官病理变化中发挥屏障保护作用。

### 3.5 肝-胰岛多类器官芯片糖尿病模型

基于 hiPSCs 来源的类器官芯片, 可以实现同一个患者来源的多类器官相互作用研究。2 型糖尿病 (T2DM) 是多器官累及的代谢性疾病。其中肝

和胰岛在疾病发生发展中发挥关键性作用。国内Tao等<sup>[77]</sup>构建可灌注的肝-胰岛类器官共培养芯片,模拟糖尿病。利用该芯片模拟人糖耐量(GTT)实验。在单一胰岛类器官培养体系中,葡萄糖的含量维持在较高水平,在单一肝脏类器官培养体系中可以降低葡萄糖水平,但是敏感性较低。而在肝-胰岛共培养体系中,葡萄糖含量由11 mmol/L降低到3.9~6.1 mmol/L范围内。说明在肝-胰岛共培养体系中,成功模拟胰岛分泌的胰岛素促进肝脏对糖的利用。为了模拟疾病状态,在该系统中添加了高浓度的葡萄糖(25 mmol/L)持续5 d模拟T2DM。发现高糖条件导致肝和胰岛线粒体功能降低,ATP产生减少。这一现象可能与胰岛类器官糖转录蛋白GLUT1和肝类器官GLUT4表达下降有关。同时利用该病理模型检测高糖条件下胰岛和肝类器官对抗糖尿病药物二甲双胍的反应。在该系统中二甲双胍可以改善线粒体功能,促进糖转运蛋白的表达。在该模型基础上集成其他脏器,可进一步模拟糖尿病的病理过程及药物对糖的调控作用,也可以实现同一患者的药物个性化治疗。

#### 4 类器官芯片亟待解决的技术问题

类器官芯片的快速发展得益于干细胞、类器官和器官芯片领域科学家的共同努力,使得类器官在结构和功能上更接近体内,为疾病机制研究和药物评价等应用领域提供了更加可靠的体外模型。但是,目前类器官芯片技术仍然处于早期发展阶段,在技术和疾病研究等领域仍存在亟需解决的问题。

首先类器官来源、扩增和保存问题。类器官的获取和保存是类器官芯片应用必要前提。现有患者来源的类器官培养成功率较低,主要与疾病的病理分型、疾病的严重程度等有关,导致同一培养体系下,部分患者来源的类器官难以成功构建。因此,需要在设计器官芯片过程中考虑高通量的类器官培养配方的筛选功能,在类器官培养早期筛选出病理相似患者的培养基配方。在类器官来源方面,引入干细胞库,构建干细胞来源的多种类器官库,用于疾病机制和药物开发等领域,替代传统细胞系

和部分动物实验。

大多数疾病属于慢性疾病,受到自身和外界的长期刺激,如糖尿病、慢性肝病等。因此,在器官芯片技术方面,需要解决类器官长期培养等问题。这在传统细胞实验中很难实现。目前部分类器官体外培养可达到1年以上,在器官芯片持续灌流模拟血管的条件下,有望实现多种慢性疾病的模拟。此外,促进干细胞来源的类器官成熟和血管化也是实现长期慢性病模拟的方法。已有文献提示可控流体可以促进hiPSCs来源的肾类器官中肾小球和肾小管的分化和成熟,可以见到足细胞、壁细胞、内皮细胞,以及细胞的极化现象,形成可以灌注的微血管结构<sup>[78]</sup>。

在类器官芯片疾病模型监测过程中,除了引用电极、电化学等方法,仍需要影像学实时监测类器官在疾病状态下的动态变化。因此需要人工智能(AI)和计算机模拟等,对疾病状态下类器官的不同形态和表型进行识别,创建特定疾病状态下的图谱和标准化评价体系。为类器官芯片的检测提供更加可靠的评估体系。

未来,还需要加强类器官芯片模型技术上的突破,开发出结构和功能更复杂、更仿生的人源化类器官芯片模型,最终实现替代动物模型和人体实验,为疾病机制研究和药物开发提供更稳定更可靠的平台和技术手段。

#### 参考文献(References)

- [1] Sontheimer-Phelps A, Hassell B A, Ingber D E. Modeling cancer in microfluidic human organs-on-chips[J]. *Nature Reviews Cancer*, 2019, 19(2): 65-81.
- [2] van de Stolpe A, Den Toonder J. Workshop meeting report Organs-on-Chips: Human disease models[J]. *Lab on a Chip*, 2013, 13(18): 3449-3470.
- [3] Franco R, Cedazo-Minguez A. Successful therapies for Alzheimer's disease: Why so many in animal models and none in humans?[J]. *Frontiers in Pharmacology*, 2014, 5: 146.
- [4] Fabre K, Berridge B, Proctor W R, et al. Introduction to a manuscript series on the characterization and use of microphysiological systems (MPS) in pharmaceutical safety

- and ADME applications[J]. *Lab on a Chip*, 2020, 20(6): 1049–1057.
- [5] Huch M, Knoblich J A, Lutolf M P, et al. The hope and the hype of organoid research[J]. *Development*, 2017, 144(6): 938–941.
- [6] Dutta D, Heo I, Clevers H. Disease modeling in stem cell-derived 3D organoid systems[J]. *Trends in Molecular Medicine*, 2017, 23(5): 393–410.
- [7] Velasco S, Kedaigle A J, Simmons S K, et al. Individual brain organoids reproducibly form cell diversity of the human cerebral cortex[J]. *Nature*, 2019, 570(7762): 523–527.
- [8] Gjorevski N, Sachs N, Manfrin A, et al. Designer matrices for intestinal stem cell and organoid culture[J]. *Nature*, 2016, 539(7630): 560–564.
- [9] Lancaster M A, Knoblich J A. Organogenesis in a dish: Modeling development and disease using organoid technologies[J]. *Science*, 2014, 345(6194): 1247125.
- [10] Yin S Y, Xi R B, Wu A W, et al. Patient-derived tumor-like cell clusters for drug testing in cancer therapy [J]. *Science Translational Medicine*, 2020, 12(549): eaaz1723.
- [11] Hofer M, Lutolf M P. Engineering organoids[J]. *Nature Reviews Materials*, 2021, 6(5): 402–420.
- [12] Garreta E, Kamm R D, Chuva de Sousa Lopes S M, et al. Rethinking organoid technology through bioengineering[J]. *Nature Materials*, 2021, 20(2): 145–155.
- [13] Wang L, Li Z Y, Xu C, et al. Bioinspired engineering of organ-on-chip devices[J]. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 2019, 1174: 401–440.
- [14] Zhang B Y, Korolj A, Lai B F L, et al. Advances in organ-on-a-chip engineering[J]. *Nature Reviews Materials*, 2018, 3(8): 257–278.
- [15] Ingber D E. Human organs-on-chips for disease modeling, drug development and personalized medicine[J]. *Nature Reviews Genetics*, 2022, doi: 10.1038/s41576-022-00466-9.
- [16] Low L A, Mummery C, Berridge B R, et al. Organs-on-chips: Into the next decade[J]. *Nature Reviews Drug Discovery*, 2021, 20(5): 345–361.
- [17] Oliveira J M, Rui L R. Biomaterials-and microfluidics-based tissue engineered 3D models[M]//*Advances in Experimental Medicine and Biology*. Berlin: Springer, 2020, 1230: 27–42.
- [18] Vunjak-Novakovic G, Ronaldson-Bouchard K, Radisic M. Organs-on-a-chip models for biological research[J]. *Cell*, 2021, 184(18): 4597–4611.
- [19] Park S E, Georgescu A, Huh D. Organoids-on-a-chip [J]. *Science*, 2019, 364(6444): 960–965.
- [20] Skardal A, Shupe T, Atala A. Organoid-on-a-chip and body-on-a-chip systems for drug screening and disease modeling[J]. *Drug Discovery Today*, 2016, 21(9): 1399–1411.
- [21] Zhao X L, Xu Z L, Xiao L, et al. Review on the vascularization of organoids and organoids-on-a-Chip[J]. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 2021, 9: 637048.
- [22] Takebe T, Zhang B Y, Radisic M. Synergistic engineering: Organoids meet organs-on-a-chip[J]. *Cell Stem Cell*, 2017, 21(3): 297–300.
- [23] Kim M, Mun H, Sung C O, et al. Patient-derived lung cancer organoids as *in vitro* cancer models for therapeutic screening[J]. *Nature Communications*, 2019, 10(1): 1–15.
- [24] Lau H C H, Kranenburg O, Xiao H P, et al. Organoid models of gastrointestinal cancers in basic and translational research[J]. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 2020, 17(4): 203–222.
- [25] Zhang S, Iyer S, Ran H, et al. Genetically defined, syngeneic organoid platform for developing combination therapies for ovarian cancer[J]. *Cancer Discovery*, 2021, 11(2): 362–383.
- [26] Kretzschmar K. Cancer research using organoid technology[J]. *Journal of Molecular Medicine*, 2021, 99(4): 501–515.
- [27] Lesavage B L, Suhar R A, Broguiere N, et al. Next-generation cancer organoids[J]. *Nature Materials*, 2022, 21(2): 143–159.
- [28] Tuveson D, Clevers H. Cancer modeling meets human organoid technology[J]. *Science*, 2019, 364(6444): 952–955.
- [29] 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.
- [30] Kopper O, de Witte C J, Löhmußaar K, et al. An organoid platform for ovarian cancer captures intra- and inter-patient heterogeneity[J]. *Nature Medicine*, 2019, 25(5): 838–849.
- [31] Mizutani T, Clevers H. Primary intestinal epithelial organoid culture[J]. *Methods in Molecular Biology*, 2020, 2171: 185–200.

- [32] Prior N, Inacio P, Huch M. Liver organoids: From basic research to therapeutic applications[J]. *Gut*, 2019, 68(12): 2228–2237.
- [33] Rosenbluth J M, Schackmann R C J, Gray G K, et al. Organoid cultures from normal and cancer-prone human breast tissues preserve complex epithelial lineages[J]. *Nature Communications*, 2020, 11: 1711.
- [34] Barkauskas C E, Chung M I, Fioret B, et al. Lung organoids: Current uses and future promise[J]. *Development*, 2017, 144(6): 986–997.
- [35] Qu M L, Xiong L, Lu Y L, et al. Establishment of intestinal organoid cultures modeling injury-associated epithelial regeneration[J]. *Cell Research*, 2021, 31(3): 259–271.
- [36] Heo I, Dutta D, Schaefer D A, et al. Modelling Cryptosporidium infection in human small intestinal and lung organoids[J]. *Nature Microbiology*, 2018, 3(7): 814–823.
- [37] Lamers M M, Beumer J, van der Vaart J, et al. SARS-CoV-2 productively infects human gut enterocytes[J]. *Science*, 2020, 369(6499): 50–54.
- [38] Tindle C, Fuller M, Fonseca A, et al. Adult stem cell-derived complete lung organoid models emulate lung disease in COVID-19[J]. *eLife*, 2021, 10: e66417.
- [39] Huang J, Hume A J, Abo K M, et al. SARS-CoV-2 infection of pluripotent stem cell-derived human lung alveolar type 2 cells elicits a rapid epithelial-intrinsic inflammatory response[J]. *Cell Stem Cell*, 2020, 27(6): 962–973.e7.
- [40] Qian X Y, Nguyen H N, Song M M, et al. Brain-region-specific organoids using mini-bioreactors for modeling ZIKV exposure[J]. *Cell*, 2016, 165(5): 1238–1254.
- [41] Ramli M N B, Lim Y S, Koe C T, et al. Human pluripotent stem cell-derived organoids as models of liver disease[J]. *Gastroenterology*, 2020, 159(4): 1471–1486.e12.
- [42] Sabitha K R, Shetty A K, Upadhy D. Patient-derived iPSC modeling of rare neurodevelopmental disorders: Molecular pathophysiology and prospective therapies[J]. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 2021, 121: 201–219.
- [43] Dost A F M, Moye A L, Vedaie M, et al. Organoids model transcriptional hallmarks of oncogenic KRAS activation in lung epithelial progenitor cells[J]. *Cell Stem Cell*, 2020, 27(4): 663–678.e8.
- [44] Kopper J J, Iennarella-Servantez C, Jergens A E, et al. Harnessing the biology of canine intestinal organoids to heighten understanding of inflammatory bowel disease pathogenesis and accelerate drug discovery: A one health approach[J]. *Frontiers in Toxicology*, 2021, 3: 773953.
- [45] Truskey G A. Human microphysiological systems and organoids as in vitro models for toxicological studies[J]. *Frontiers in Public Health*, 2018, 6: 185.
- [46] Chen W L K, Edington C, Suter E, et al. Integrated gut/liver microphysiological systems elucidates inflammatory inter-tissue crosstalk[J]. *Biotechnology and Bioengineering*, 2017, 114(11): 2648–2659.
- [47] Malik M, Yang Y, Fathi P, et al. Critical considerations for the design of multi-organ microphysiological systems (MPS)[J]. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 2021, 9: 721338.
- [48] Novak R, Ingram M, Marquez S, et al. Robotic fluidic coupling and interrogation of multiple vascularized organ chips[J]. *Nature Biomedical Engineering*, 2020, 4(4): 407–420.
- [49] Huh D, Leslie D C, Matthews B D, et al. A human disease model of drug toxicity-induced pulmonary edema in a lung-on-a-chip microdevice[J]. *Science Translational Medicine*, 2012, 4(159): 159ra147.
- [50] Jain A, Barrile R, van der Meer A D, et al. Primary human lung alveolus-on-a-chip model of intravascular thrombosis for assessment of therapeutics[J]. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 2018, 103(2): 332–340.
- [51] Hassell B A, Goyal G, Lee E, et al. Human organ chip models recapitulate orthotopic lung cancer growth, therapeutic responses, and tumor dormancy *in vitro*[J]. *Cell Reports*, 2017, 21(2): 508–516.
- [52] Si L, Bai H, Oh C Y, et al. Self-assembling short immunostimulatory duplex RNAs with broad spectrum antiviral activity[J]. *BioRxiv: the Preprint Server for Biology*, 2021, doi: 2021.11.19.469183.
- [53] Benam K H, Villenave R, Lucchesi C, et al. Small airway-on-a-chip enables analysis of human lung inflammation and drug responses *in vitro*[J]. *Nature Methods*, 2016, 13(2): 151–157.
- [54] Gard A L, Luu R J, Miller C R, et al. High-throughput human primary cell-based airway model for evaluating influenza, coronavirus, or other respiratory viruses *in vitro*[J]. *Scientific Reports*, 2021, 11(1): 14961.
- [55] Plebani R, Potla R, Soong M, et al. Modeling pulmonary cystic fibrosis in a human lung airway-on-a-chip: Cystic fibrosis airway chip[J]. *Journal of Cystic Fibrosis: Official Journal of the European Cystic Fibrosis Society*,

- 2021, doi: 10.1016/j.jcf.2021.10.004.
- [56] Jang K J, Otieno M A, Ronxhi J, et al. Reproducing human and cross-species drug toxicities using a Liver-Chip[J]. *Science Translational Medicine*, 2019, 11(517): eaax5516.
- [57] Ortega-Prieto A M, Skelton J K, Wai S N, et al. 3D microfluidic liver cultures as a physiological preclinical tool for hepatitis B virus infection[J]. *Nature Communications*, 2018, 9(1): 682.
- [58] Wang L, Tao T T, Su W T, et al. A disease model of diabetic nephropathy in a glomerulus-on-a-chip microdevice[J]. *Lab on a Chip*, 2017, 17(10): 1749-1760.
- [59] Zhou M Y, Zhang X L, Wen X Y, et al. Development of a functional glomerulus at the organ level on a chip to mimic hypertensive nephropathy[J]. *Scientific Reports*, 2016, 6: 31771.
- [60] Lin N Y C, Homan K A, Robinson S S, et al. Renal reabsorption in 3D vascularized proximal tubule models [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2019, 116(12): 5399-5404.
- [61] Lacombe J, Soldevila M, Zenhausem F. From organ-on-chip to body-on-chip: The next generation of microfluidics platforms for *in vitro* drug efficacy and toxicity testing[M]//*Progress in Molecular Biology and Translational Science*. Amsterdam: Elsevier, 2022: 41-91.
- [62] Luni C, Serena E, Elvassore N. Human-on-chip for therapy development and fundamental science[J]. *Current Opinion in Biotechnology*, 2014, 25: 45-50.
- [63] Zhang C, Zhao Z Q, Abdul Rahim N A, et al. Towards a human-on-chip: Culturing multiple cell types on a chip with compartmentalized microenvironments[J]. *Lab on a Chip*, 2009, 9(22): 3185-3192.
- [64] Sasserath T, Rumsey J W, Mcaleer C W, et al. Differential monocyte actuation in a three-organ functional innate immune system-on-a-chip[J]. *Advanced Science*, 2020, 7(13): 2000323.
- [65] Chen W L K, Edington C, Suter E, et al. Integrated gut/liver microphysiological systems elucidates inflammatory inter-tissue crosstalk[J]. *Biotechnology and Bioengineering*, 2017, 114(11): 2648-2659.
- [66] Skardal A, Devarasetty M, Forsythe S, et al. A reductionist metastasis-on-a-chip platform for in vitro tumor progression modeling and drug screening[J]. *Biotechnology and Bioengineering*, 2016, 113(9): 2020-2032.
- [67] Chang S Y, Weber E J, Sidorenko V S, et al. Human liver-kidney model elucidates the mechanisms of aristolochic acid nephrotoxicity[J]. *JCI Insight*, 2017, 2(22): e95978.
- [68] Mcaleer C W, Long C J, Elbrecht D, et al. Multi-organ system for the evaluation of efficacy and off-target toxicity of anticancer therapeutics[J]. *Science Translational Medicine*, 2019, 11(497): eaav1386.
- [69] Herland A, Maoz B M, Das D, et al. Quantitative prediction of human pharmacokinetic responses to drugs via fluidically coupled vascularized organ chips[J]. *Nature Biomedical Engineering*, 2020, 4(4): 421-436.
- [70] Demers C J, Soundararajan P, Chennampally P, et al. Development-on-chip: *in vitro* neural tube patterning with a microfluidic device[J]. *Development*, 2016, 143(11): 1884-1892.
- [71] Wang Y L, Gunasekara D B, Reed M I, et al. A microengineered collagen scaffold for generating a polarized crypt-villus architecture of human small intestinal epithelium[J]. *Biomaterials*, 2017, 128: 44-55.
- [72] Shin Y C, Shin W, Koh D, et al. Three-dimensional regeneration of patient-derived intestinal organoid epithelium in a physiodynamic mucosal interface-on-a-chip [J]. *Micromachines*, 2020, 11(7): 663.
- [73] Mun K S, Arora K, Huang Y J, et al. Patient-derived pancreas-on-a-chip to model cystic fibrosis-related disorders[J]. *Nature Communications*, 2019, 10: 3124.
- [74] Wang Y Q, Wang L, Zhu Y J, et al. Human brain organoid-on-a-chip to model prenatal nicotine exposure[J]. *Lab on a Chip*, 2018, 18(6): 851-860.
- [75] Cui K L, Wang Y Q, Zhu Y J, et al. Neurodevelopmental impairment induced by prenatal valproic acid exposure shown with the human cortical organoid-on-a-chip model[J]. *Microsystems & Nanoengineering*, 2020, 6: 49.
- [76] Achberger K, Probst C, Haderspeck J, et al. Merging organoid and organ-on-a-chip technology to generate complex multi-layer tissue models in a human retina-on-a-chip platform[J]. *eLife*, 2019, 8: e46188.
- [77] Tao T, Deng P, Wang Y, et al. Microengineered multi-organoid system from hiPSCs to recapitulate human liver-islet axis in normal and type 2 diabetes[J]. *Advanced Science*, 2022, 9(5): e2103495.
- [78] Homan K A, Gupta N, Kroll K T, et al. Flow-enhanced vascularization and maturation of kidney organoids *in vitro*[J]. *Nature Methods*, 2019, 16(3): 255-262.

## Applications of organoids-on-a-chip in disease models *in vitro*

WANG Li<sup>1</sup>, LUO Shaman<sup>1</sup>, ZHANG Miao<sup>2</sup>, WEI Wenbo<sup>2\*</sup>, QIU Junjun<sup>3\*</sup>

1. Institutes of Biomedical Sciences and the Shanghai Key Laboratory of Medical Epigenetics, Shanghai Medical College, Fudan University, Shanghai 200032, China
2. The First Affiliated Hospital of Shenzhen University; Shenzhen Second People's Hospital, Shenzhen 518035, China
3. Department of Gynaecology, Obstetrics and Gynaecology Hospital, Fudan University, Shanghai 200011, China

**Abstract** To gain a better insight into the mechanisms of the human disease calls for stable and reliable *in vitro* and *in vivo* models to reproduce the physiological and pathophysiological processes of human tissues and organs. Cellular and animal models provide critical tools for modeling the human condition, but due to the deficiencies of these methods, we may fail to comprehend the human diseases accurately. Organoids originate from the stem cells based on the cellular self-organization and development principles, and are similar to the native organs in structure and functions. However, most organoids can not mimic the functions of the mature organs due to lacking controllable biochemical and biophysical stimulations. Organ-on-a-Chip is an emerging cutting-edge technology in the last decade by culturing multiple cells on the microfluidic chips to model the physiological and pathological microenvironments of the organs veritabily. This technology provides three dimensional microphysiological systems with the tissue-tissue interface and the multiple physicochemical stimulations. Organoid-on-a-Chips, the integration of the organoids with the organ-on-a-chip technology, provide a better biomimetic environment for the traditional organoid culture system and avoid the shortage of the conventional organoid technology. The organoid-on-a-Chip technology promises to be a potential *in vitro* disease model. In this review, we focus on the construction of disease models on the organoid-on-a-chip and the research advances in the disease mechanism. We also discuss the current obstacles and the future trend of this technology.

**Keywords** organ-on-a-chip; organoid-on-a-chip; microfluidics; disease models; personalized treatment ●



(责任编辑 刘志远)