·综 述·

肿瘤类器官与免疫细胞共培养模型研究进展

李 含，王宇静，陈美奇，陈秀华，王 娟*
（中国医药工业研究总院药理评价研究中心，上海市生物物质成药性评价专业技术服务平台，上海 200437）

摘要：随着免疫学以及免疫疗法的高速发展，深入地了解免疫细胞与肿瘤细胞之间的相互作用及机制，以改善免疫疗法的临床效果、开发新的治疗方法越来越具备可能性及重要性。传统二维细胞培养存在各种方面的限制，而新型的类器官初步具备了起源组织复杂的细胞微环境，且在基因组及分子标志等方面，与体内来源组织或器官高度相似。类器官与免疫细胞共培养的环境使类器官的体外培养增加了免疫细胞浸润的环境刺激，更贴近体内生长环境，为自身免疫疾病、肿瘤及其相关免疫疗法等研究提供理想的实验平台。现就肿瘤类器官与免疫细胞共培养的研究进展以及两者相互作用的可能机制作简要综述。

关键词：肿瘤类器官；免疫细胞；共培养
中图分类号：R-33 **文献标志码：**A **文章编号：**1672-9188（2022）07-0820-06
DOI：10.13683/j.wph.2022.07.002

Research progress of co-culture models of tumor organoids and immune cells

LI Han, WANG Yujing, CHEN Meiqi, CHEN Xiuhua, WANG Juan*
(*Center for Pharmacological Evaluation and Research, China State Institute of Pharmaceutical Industry, Shanghai Professional and Technical Service Center for Biological Material Druggability Evaluation, Shanghai 200437, China*)

Abstract: With the rapid development of immunology and immunotherapy, it is increasingly possible and important to understand the interaction and mechanism between immune cells and tumor cells in order to improve the clinical effect of immunotherapy and develop new treatment methods. Traditional two-dimensional cell culture has various limitations, and the new organoids summarize the complex environment of the original tissue, and are highly similar to the original tissue or organ *in vivo* in terms of genome and molecular markers. The co-culture system of organoids and immune cells creates an immune environment which mimics the tumor microenvironment *in vivo* and provides an ideal experimental platform for autoimmune diseases, tumor immune research and immunotherapy. This article reviewed the progress of the co-culture system of tumor organoids and immune cells and the mechanism of their interaction.

Key words: tumor organoids; immune cells; co-culture

尽管目前肿瘤体内模型的建立已有了较大进展，但肿瘤免疫药物的研发试验仍以同基因小鼠模型为主[1]。患者来源异种移植瘤（patient-derived tumor xenograft，PDX）保留了原始肿瘤的基因型、表型特点以及部分肿瘤组织结构和细胞间相互作用，适用于监测肿瘤的自然生长及异质性。然而，PDX 荷瘤鼠为重度免疫缺陷动物，这限制了其在免疫疗法相关研究中的应用。常规二维培养的肿瘤细胞是体外实验的主要模型，但单层生长的肿瘤细胞系由于适应了人工体外培养条件，很难保留其来源原始肿瘤的固有异质性和表型特征[2]，无法体现肿瘤的空间结构、微环境及细胞间相互作用。类器官是一种三维细胞培养系统，与体内来源的组织或器官高度相似[3]，其可复制出已分化组织的复杂空间形态，包括细胞 - 细胞及细胞 - 细胞外基质，理想情况下还包

收稿日期：2022-04-21
作者简介：李含，硕士研究生，研究方向：肿瘤药理学。
通信作者：王娟，研究员，硕士生导师，研究方向：肿瘤药理学。

括细胞 - 免疫相互作用。

将免疫细胞与原发肿瘤细胞以三维模式共培养有助于进一步了解肿瘤与免疫系统之间的相互作用，对于肿瘤免疫治疗的研究具有重要意义，亦能促进个性化免疫疗法更适应现实。本文将对肿瘤类器官与不同免疫细胞共培养的研究进展以及两者相互作用的可能机制作简要综述。

1 免疫细胞与肿瘤类器官共培养

1.1 T 细胞

通常来说，因黑色素瘤细胞系较易获得，且有相应的方法来大量扩增其肿瘤浸润性 T 细胞，故分析 T 细胞与肿瘤相互作用的体外系统大多数集中在皮肤黑色素瘤 [4]。随着上皮恶性肿瘤免疫疗法的广泛开发及临床应用，开发此类肿瘤中 T 细胞介导的肿瘤识别技术至关重要。

为了研究患者来源的肿瘤类器官模型中的肿瘤 - 免疫相互作用，Dijkstra 等 [5] 建立了一种基于肿瘤类器官培养的多功能平台，用于扩增和表征患者来源的肿瘤反应性 T 细胞。其将错配修复缺陷的结直肠癌（colorectal cancer，CRC）和非小细胞肺癌（non-small cell lung cancer，NSCLC）类器官与来源于相同患者的外周血单核细胞（peripheral blood mononuclear cell，PBMC）共培养，以肿瘤类器官和正常类器官对照作为靶细胞，对共培养扩增的 T 细胞的免疫反应性进行了全面评估。结果发现，50%CRC 类器官激活了同一患者 PBMC 中的 $CD8^+$ T 细胞，NSCLC 类器官也得到了类似的结果；同时，其还发现，激活的 $CD8^+$ T 细胞可以有效杀伤肿瘤类器官，且不影响正常组织类器官的存活，而共培养产生的 $CD4^+$ T 细胞对肿瘤类器官及正常组织类器官均有杀伤作用。该研究结果证明，自体肿瘤类器官与 PBMC 共培养可用于富集错配修复缺陷 CRC 和 NSCLC 患者外周血中肿瘤反应性的 T 细胞。

Holokai 等 [6] 将树突状细胞预先用胃癌类器官的条件培养基进行刺激后，与细胞毒性 T 细胞（cytotoxic T lymphocyte，CTL）和胃癌类器官共培养，发现条件培养基中的肿瘤特异性抗原可显著诱导 CTL 表达程序性死亡 -1（programmed death-1，PD-1），并保护肿瘤类器官免受 CTL 诱导的细胞凋亡。

1.2 骨髓来源的抑制细胞（myeloid-derived suppressor cells，MDSC）

在人类和小鼠中，MDSC 有两种不同亚群，即单核细胞 MDSC 和多形核 MDSC[7-8]。已知 MDSC 可通过 *L*- 精氨酸与 *L*- 半胱氨酸的螯合，以及活性氧的生成来抑制 $CD8^+$ CTL 的抗肿瘤活性 [8-10]，多形核 MDSC 与胰腺癌预后不良有关 [11]。

Holokai 等 [12] 用患者自身的肿瘤抗原和树突状抗原提呈细胞激活 $CD8^+$ T 细胞，建立了胰腺导管癌（pancreatic ductal adenocarcinoma，PDAC）类器官、CTL 及 MDSC 共培养体系。在 PDAC 原位小鼠和类器官模型的体内外研究表明，多形核 MDSC 可能有助于肿瘤的生长，抑制 $CD8^+$ T 细胞的增殖，并导致免疫检查点抑制作用减弱。该共培养系统表明，可通过耗尽多形核 MDSC 并抑制 PD-1/ 程序性死亡配体 1（programmed death ligand 1，PD-L1）之间的相互作用来增强 CTL 效应功能，抑制靶向表达 PD-L1 的 PDAC 细胞。

1.3 自然杀伤（natural killer，NK）细胞

NK 细胞受体提供激活或抑制信号，以诱导针对靶细胞的直接细胞毒性、抗体依赖性细胞介导的细胞毒作用或耐受性。其中 NKG2D 和 NKG2A 主要由 NK 细胞、$CD8^+$ T 细胞和 $CD4^+$ T 细胞亚群表达 [13-16]。NKG2D 与其配体 MICA/MICB 的相互作用激活 NK 细胞的细胞毒作用，已被报道为 T 细胞的重要共刺激信号 [17-18]。MICA 和 MICB 是 MHC Ⅰ类蛋白，在多种肿瘤细胞表面均有表达，NK 细胞通过 NKG2D 对其进行识别进而杀灭肿瘤细胞。有研究证实，肿瘤细胞可通过水解脱落表面的 MICA、MICB 蛋白，降低 NKG2D 对 MICA、MICB 的识别，并诱导 NKG2D 与可溶性 MICA、MICB 达到饱和，从而逃避免疫系统的监视 [19]。NKG2A 与人类白细胞抗原（human leukocyte antigen，HLA）-E 分子结合，

在 T 细胞和 NK 细胞中提供强大的抑制信号 [20-21]。

为了研究 NK 细胞和 T 细胞对人类肿瘤的浸润、激活等功能，特别是 NKG2D 和 NKG2A 通路，Tristan 等 [22] 利用结肠癌 HT29 和 DLD1 类器官与 PBMC 共培养，证实抗 MICA/MICB 治疗通过促进 NK 细胞浸润和活化，增强免疫依赖性对肿瘤的破坏，且肿瘤细胞对免疫浸润的反应是通过上调 CD8 和 NK 细胞表达的抑制性受体 NKG2A 的配体 HLA-E 来实现的，而抗 MICA/MICB 治疗可增加 NKG2A 表达。此外，当淋巴细胞被白介素（interleukin，IL）-15 刺激后，NKG2A 和 HLA-E 的表达均会显著增加，这表明肿瘤细胞可通过 NKG2A 与 HLA-E 相互作用来逃避免疫应答。上述研究结果说明抗 MICA/MICB 和抗 NKG2A 对抗肿瘤治疗具有协同作用。

2 免疫细胞、成纤维细胞与肿瘤类器官共培养

成纤维细胞是肿瘤间质中最丰富的细胞类型之一，肿瘤相关成纤维细胞（cancer-associated fibroblasts，CAFs）及其纤维化过程通常与炎症反应相关 [23]。作为肿瘤间质的主要成分，CAFs 不仅能阻碍抗肿瘤 T 细胞对肿瘤的渗透，还能通过分泌大量的细胞因子和趋化因子来调节免疫功能 [23-24]。

2.1 T 细胞

Phan-Lai 等 [24] 开发了一种三维培养系统以研究 CAFs 对乳腺肿瘤细胞及 T 淋巴细胞功能的影响。其使用三维壳聚糖 - 海藻酸钠为支架进行肿瘤细胞、T 淋巴细胞及成纤维细胞共培养，以肿瘤坏死因子（tumor necrosis factor，TNF）-α 作为辅助性 T 细胞 1 细胞活化的指标，发现 CAFs 可减弱 T 细胞分泌 TNF-α 的能力，提示 CAFs 在这一系统中具有免疫抑制作用；进一步研究表明，该免疫抑制作用可能由转化生长因子（transforming growth factor，TGF）-β 和 IL-10 介导。TGF-β 和 IL-10 都是免疫抑制的典型介质，在肿瘤细胞、T 细胞或成纤维细胞单独培养时的分泌量均较低。在三者共培养时，TGF-β 和 IL-10 的分泌量才显著增加。

除此之外，Tsai 等 [25] 首次建立了一种肿瘤类器官、间质成分与免疫细胞共培养的模型，从外周血淋巴细胞中分离出 T 细胞，将其与肿瘤类器官共培养。在该模型中，研究者证明肿瘤组织周围细胞外基质具有浸润能力，且 T 细胞的浸润具有肿瘤依赖性。

2.2 单核 - 巨噬细胞

肿瘤相关巨噬细胞（tumor-associated macrophages，TAMs）的存在已被证明有利于肿瘤的进展，其可接收来自肿瘤微环境中不同细胞的信号，并释放各种生长因子和细胞因子促进肿瘤细胞侵袭，诱导血管生成，抑制抗肿瘤免疫，并促进肿瘤细胞转移 [26]。TAMs 起源于循环中的单核细胞，具有高度的多样性和可塑性。巨噬细胞在表型上分为两个类型，分别是经典活化的 M1 型及旁路活化的 M2 型。其中 M1 型具有促炎表型，表现为人类白细胞 DR 抗原、IL-1β、TNF-α、IL-12 及 IL-6 的表达和释放增加，并具有诱导辅助性 T 细胞 1 介导的免疫应答能力；M2 型具有抗炎特性，表现为免疫抑制细胞因子，如 TGF-β 和 IL-10 的表达、分泌增加 [27-28]。TAMs 不仅与血管生成、侵袭和转移有关，而且还具有很强的免疫抑制特性。已知 TAMs 通过分泌免疫抑制细胞因子（如 TGF-G、IL-10 和Ⅰ型精氨酸酶）以及通过表达细胞表面分子（如 PD-L1）抑制 T 细胞的激活及其功能 [27,29-31]。

Kuen 等 [32] 建立了胰腺癌细胞、CAFs 和单核细胞的共培养模型，可以观察到肿瘤及成纤维细胞诱导共培养单核细胞的 M2 极化，其表型类似于 PDAC 中的 TAMs。与极化的单核细胞来源的巨噬细胞（monocyte derived macrophages，MDM）共培养时，T 细胞激活标志物 CD25 和 CD69 显著减少，并且其他免疫检查点 / 调节标志物如 4-1BB、PD-1 及细胞毒性 T 淋巴细胞抗原（cytotoxic T lymphocyte antigen，CTLA）-4 的表达也下调。CD25 的低表达表明 T 细胞的功能受损，而早期的 T 细胞激活标志物 CD69 无法完全预测 T 细胞的激活状态 [33-34]。4-1BB 是肿瘤反应性 T 细胞的生物标志物，能够抑制体内

肿瘤的生长[35]。当 PD-1 和 CTLA-4 与其配体结合时，T 细胞在效应期表现为功能受损，抑制抗肿瘤免疫[36]。TAMs 不仅能抑制 T 细胞的活化，还能在体内肿瘤微环境中抑制 T 细胞的增殖[37-38]。在 Kuen 等[32]创建的共培养模型中，极化的 MDM 不仅可抑制 T 细胞的激活，表现出 T 细胞激活标志物的低表达，而且在体外系统中同样可以抑制 T 细胞的增殖。

3 总结与展望

将肿瘤类器官与 PBMC 或淋巴结中的外周免疫细胞共培养，可建立一种免疫系统与肿瘤相互作用的模型，在此基础上能深入了解肿瘤与免疫系统间的作用机制，也可以对肿瘤免疫循环进行建模，包括 T 细胞的启动 / 激活、T 细胞向肿瘤的迁移 / 渗透以及 T 细胞对肿瘤细胞的识别 / 杀伤。这些模型可以通过共培养产生的肿瘤反应性 T 细胞测试肿瘤患者在不同治疗阶段对免疫治疗的敏感性[7]，尤其是对于最初对免疫检查点疗法有反应但最终复发的患者来说，其复发前后的肿瘤活检组织产生的类器官与血液共培养或能对复发的潜在原因进行分析；亦可通过病原体、上皮细胞和免疫细胞的相互作用，重现肿瘤相关的炎症和癌变过程，从而评估免疫调节结果及免疫治疗反应[39]。

笔者所在实验室从事类器官模型建设 3 年，在已成立的类器官工程实验平台中累计建立人体肿瘤和非肿瘤类器官逾百种、数千例，积累了丰富的类器官建立、扩增、冻存、复苏、传代、免疫组化、免疫荧光、周期、药敏、基因组学分析、转录组学分析及蛋白质组学分析等数据。本实验室建立了肿瘤浸润淋巴细胞或 PBMC 来源的淋巴细胞与肿瘤类器官共培养体系，肿瘤类器官具备接近于原始组织的细胞分类及功能，具有自我复制、增殖的能力，可在体外连续传代培养。使用淋巴细胞与肿瘤类器官共培养体系，可致力于开展靶向免疫系统肿瘤治疗方法的检测评价平台建设。随着共培养系统的成熟，可以扩展到肿瘤微环境中的其他细胞或成分（如肿瘤类器官表达的趋化因子 CXCL12），通过开发越来越逼真和复杂的三维模型，模拟肿瘤细胞与免疫系统间相互作用的能力也会越来越高。更多的研究人员开始将这些方法与其他技术（如单细胞测序或先进的显微镜方法）结合起来，以帮助更清晰地理解免疫系统与肿瘤间的相互作用及免疫疗法，并推进其向临床转化。

参考文献：

[1] Olson B, Li Y, Lin Y, *et al*. Mouse models for cancer immunotherapy research[J]. Cancer Discov, 2018, 8(11): 1358-1365.

[2] Sia D, Moeini A, Labgaa I, *et al*. The future of patient-derived tumor xenografts in cancer treatment[J]. Pharmacogenomics, 2015, 16(14): 1671-1683.

[3] Shamir ER, Ewald AJ. Three-dimensional organotypic culture: experimental models of mammalian biology and disease[J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2014, 15(10): 647-664.

[4] Rosenberg SA, Restifo NP. Adoptive cell transfer as personalized immunotherapy for human cancer[J]. Science, 2015, 348(6230): 62-68.

[5] Dijkstra KK, Cattaneo CM, Weeber F, *et al*. Generation of tumor-reactive T cells by co-culture of peripheral blood lymphocytes and tumor organoids[J]. Cell, 2018, 174(6): 1586-1598.

[6] Chakrabarti J, Holokai L, Syu L, *et al*. Hedgehog signaling induces PD-L1 expression and tumor cell proliferation in gastric cancer[J]. Oncotarget, 2018, 9(100): 37439-37457.

[7] Schouppe E, Van Overmeire E, Laoui D, *et al*. Modulation of $CD8^+$T-cell activation events by monocytic and granulocytic myeloid-derived suppressor cells[J]. Immunobiology, 2013, 218(11): 1385-1391.

[8] Youn JI, Nagaraj S, Collazo M, *et al*. Subsets of myeloid-derived suppressor cells in tumor-bearing mice[J]. J Immunol, 2008, 181(8): 5791-5802.

[9] Zhang Y, Velez-Delgado A, Mathew E, *et al*. Myeloid cells are required for PD-1/PD-L1 checkpoint activation and the establishment of an immunosuppressive environment in pancreatic cancer[J]. Gut, 2017, 66(1): 124-136.

[10] Schouppe E, Van Overmeire E, Laoui D, *et al*. Modulation of $CD8^+$T-cell activation events by monocytic and granulocytic myeloid-derived suppressor cells[J]. Immunobiology, 2013, 218(11): 1385-1391.

[11] Stromnes IM, Brockenbrough JS, Izeradjene K, *et al*. Targeted depletion of an MDSC subset unmasks pancreatic ductal adenocarcinoma to adaptive immunity[J]. Gut, 2014, 63(11): 1769-1781.

[12] Holokai L, Chakrabarti J, Lundy J, *et al*. Murine- and human-derived autologous organoid/immune cell co-cultures as pre-clinical models of pancreatic ductal adenocarcinoma[J]. Cancers (Basel), 2020, 12(12): 3816.

[13] Allez M, Tieng V, Nakazawa A, *et al*. $CD4^+NKG2D^+$T cells in Crohn's disease mediate inflammatory and cytotoxic responses through MICA interactions[J]. Gastroenterology, 2007, 132(7): 2346-2358.

[14] Pietra G, Romagnani C, Moretta L, *et al*. HLA-E and HLA-E-bound peptides: recognition by subsets of NK and T cells[J]. Curr Pharm Des, 2009, 15(28): 3336-3344.

[15] Barbarin A, Cayssials E, Jacomet F, *et al*. Phenotype of NK-like $CD8^+$T cells with innate features in humans and their relevance in cancer diseases[J]. Front Immunol, 2017, 8: 316.

[16] Prajapati K, Perez C, Rojas LBP, *et al*. Functions of NKG2D in $CD8^+$T cells: an opportunity for immunotherapy[J]. Cell Mol Immunol, 2018, 15(5): 470-479.

[17] Raulet DH. Roles of the NKG2D immunoreceptor and its ligands[J]. Nat Rev Immunol, 2003, 3(10): 781-790.

[18] Westwood JA, Kelly JM, Tanner JE, *et al*. Cutting edge: novel priming of tumor-specific immunity by NKG2D-triggered NK cell-mediated tumor rejection and Th1-independent $CD4^+$T cell pathway[J]. J Immunol, 2004, 172(2): 757-761.

[19] Zhang J, Basher F, Wu JD. NKG2D ligands in tumor immunity: two sides of a coin[J]. Front Immunol, 2015, 6: 97.

[20] Gunturi A, Berg RE, Forman J. The role of CD94/NKG2 in innate and adaptive immunity[J]. Immunol Res, 2004, 30(1): 29-34.

[21] Wieten L, Mahaweni NM, Voorter CE, *et al*. Clinical and immunological significance of HLA-E in stem cell transplantation and cancer[J]. Tissue Antigens, 2014, 84(6): 523-535.

[22] Courau T, Bonnereau J, Chicoteau J, *et al*. Cocultures of human colorectal tumor spheroids with immune cells reveal the therapeutic potential of MICA/B and NKG2A targeting for cancer treatment[J]. J Immunother Cancer, 2019, 7(1): 74.

[23] Shalapour S, Karin M. Immunity, inflammation, and cancer: an eternal fight between good and evil[J]. J Clin Invest, 2015, 125(9): 3347-3355.

[24] Phan-Lai V, Florczyk SJ, Kievit FM, *et al*. Three-dimensional scaffolds to evaluate tumor associated fibroblast-mediated suppression of breast tumor specific T cells[J]. Biomacromolecules, 2013, 14(5): 1330-1337.

[25] Tsai S, McOlash L, Palen K, *et al*. Development of primary human pancreatic cancer organoids, matched stromal and immune cells and 3D tumor microenvironment models[J]. Bio Med Central Cancer, 2018, 18(1): 335.

[26] Kurahara H, Shinchi H, Mataki Y, *et al*. Significance of M2-polarized tumor-associated macrophage in pancreatic cancer[J]. J Surg Res, 2011, 167(2): e211-e219.

[27] Helm O, Held-Feindt J, Grage-Griebenow E, *et al*. Tumor-associated macrophages exhibit pro- and anti-inflammatory properties by which they impact on pancreatic tumorigenesis[J]. Int J Cancer, 2014, 135(4): 843-861.

[28] Martinez FO, Sica A, Mantovani A, *et al*. Macrophage activation and polarization[J]. Front Biosci, 2008, 13: 453-461.

[29] Mantovani A, Sozzani S, Locati M, *et al*. Macrophage polarization: tumor-associated macrophages as a paradigm for polarized M2 mononuclear phagocytes[J]. Trends Immunol, 2002, 23(11): 549-555.

[30] Yang Z, Ming XF. Functions of arginase isoforms in macrophage inflammatory responses: impact on cardiovascular diseases and metabolic disorders[J]. Front Immunol, 2014, 5: 533.

[31] Berghoff AS, Ricken G, Widhalm G, *et al*. PD1(CD279) and PD-L1(CD274, B7H1) expression in primary central nervous system lymphomas(PCNSL)[J]. Clin Neuropathol, 2014, 33(1): 42-49.

[32] Kuen J, Darowski D, Kluge T, *et al*. Pancreatic cancer cell/fibroblast co-culture induces M2 like macrophages that influence therapeutic response in a 3D model[J]. PLoS One, 2017, 12(7): e0182039.

[33] Ladányi A, Somlai B, Gilde K, *et al*. T-cell activation marker expression on tumor-infiltrating lymphocytes as prognostic factor in cutaneous malignant melanoma[J]. Clin Cancer Res, 2004, 10(2): 521-530.

[34] Berd D, Jr Maguire HC, Mastrangelo MJ, *et al*. Activation markers on T cells infiltrating melanoma metastases after therapy with dinitrophenyl-conjugated vaccine[J]. Cancer Immunol Immunother, 1994, 39(3): 141-147.

[35] Zhu Y, Chen L. CD137 as a biomarker for tumor-reactive T

cells: finding gold in the desert[J]. Clin Cancer Res, 2014, 20(1): 3-5.

[36] Winograd R, Byrne KT, Evans RA, *et al*. Induction of T-cell immunity overcomes complete resistance to PD-1 and CTLA-4 blockade and improves survival in pancreatic carcinoma[J]. Cancer Immunol Res, 2015, 3(4): 399-411.

[37] Movahedi K, Laoui D, Gysemans C, *et al*. Different tumor microenvironments contain functionally distinct subsets of macrophages derived from Ly6C(high) monocytes[J]. Cancer Res, 2010, 70(14): 5728-5739.

[38] Williams CB, Yeh ES, Soloff AC. Tumor-associated macrophages: unwitting accomplices in breast cancer malignancy[J]. NPJ Breast Cancer, 2016, 2: 15025.

[39] Yuki K, Cheng N, Nakano M, *et al*. Organoid models of tumor immunology[J]. Trends Immunol, 2020, 41(8): 652-664.

(编辑：王 佳)

(上接第 819 页)

[46] 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.

[47] Takasato M, Er PX, Chiu HS, *et al*. Kidney organoids from human iPS cells contain multiple lineages and model human nephrogenesis[J]. Nature, 2015, 526(7574): 564-568.

[48] Mun SJ, Ryu JS, Lee MO, *et al*. Generation of expandable human pluripotent stem cell-derived hepatocyte-like liver organoids[J]. J Hepatol, 2019, 71(5): 970-985.

[49] Seino T, Kawasaki S, Shimokawa M, *et al*. Human pancreatic tumor organoids reveal loss of stem cell niche factor dependence during disease progression[J]. Cell Stem Cell, 2018, 22(3): 454-67.

[50] Sachs N, de Ligt J, Kopper O, *et al.* A living biobank of breast cancer organoids captures disease heterogeneity[J]. Cell, 2018, 172(1-2): 373-386.

[51] Prior N, Inacio P, Huch M. Liver organoids: from basic research to therapeutic applications[J]. Gut, 2019, 68(12): 2228-2237.

(编辑：沈佳婕)