·综 述·

类器官模型在前列腺癌研究与治疗中的应用

陈美琪[1]，范淑盼[1]，杨云云[1]，王 娟[2]，刘 莉[2]，王 卓[1*]
（1. 海军军医大学第一附属医院药学部，上海 200433；
2. 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公共服务平台，上海 200437）

摘要：前列腺癌（prostate cancer，PCa）是男性常见恶性肿瘤之一，由于其高度异质性及耐药性，一般治疗无法使患者获得最大收益。啮齿类动物与人的前列腺发育有较大区别，现有 2 维模型无法重现 PCa 患者特性，而类器官体外模型的出现，为 PCa 研究提供新思路，架起 2 维培养与体内模型之间的桥梁。该文介绍现有的前列腺模型，包括 2 维细胞系模型，患者来源的异种移植模型（来源系患者、循环肿瘤细胞、诱导多能干细胞的类器官模型）以及患者来源的异种移植的类器官模型，概述其在应用中的优势以及不足之处。

关键词：前列腺癌；类器官；诱导多能干细胞；患者来源的异种移植物。
中图分类号：R737.25 **文献标志码**：A **文章编号**：1672-9188(2024)02-0187-05
DOI：10.13683/j.wph.2024.02.013

Application of organoid model in prostate cancer research and treatment

CHEN Meiqi[1], FAN Shupan[1], YANG Yunyun[1], WANG Juan[2], LIU Li[2], WANG Zhuo[1*]
(*1. Department of Pharmacy, the First Affiliated Hospital of Naval Medical University, Shanghai 200433, China;*
2. Shanghai Public Service Platform for Drug Conversion of Biological Substances, Center for Pharmacological Evaluation and Research, China General Institute of Pharmaceutical Industry, Shanghai 200437, China)

Abstract: Prostate cancer (PCa) is one of the most common malignancies in men, and due to its high heterogeneity and drug resistance, general treatment cannot provide maximum benefit to patients.. The prostate development of rodents is quite different from that of human. The existing 2 dimensional model cannot reproduce the unique characteristics of PCa patients. The appearance of *in vitro* organoid model provides a new idea for PCa research, and bridges the gap between 2 dimensional culture and *in vivo* model. This paper reviewed describes some existing prostate models, including 2 dimensional cell line models, patient-derived xenotransplantation models (organoid models derived from patients, circulating tumor cell, induced pluripotent stem cells) and organoid models derived from patient-derived xenotransplantation, outlined their advantages and disadvantages in the application.

Key words: prostate cancer; organoid; induced pluripotency stem cells; patient-derived xenografts

前列腺癌（prostate cancer，PCa）是男性中常见非皮肤恶性肿瘤，也是恶性肿瘤相关死亡的主要原因之一[1]。前列腺发育是众多基因和细胞通路参与的复杂过程[2]。雄激素是前列腺生长、发育及 PCa 细胞增殖的主要调节因子[3]，雄激素缺失时前列腺则无法发育[4]。雄激素剥夺疗法是改善原发性或转移性 PCa 生存、降低发病率的一线疗法，但大部分患者会产生耐药性，最终进展为去势抵抗性 PCa（castration-resistant PCa，CRPC）[5]。CRPC 具有侵袭性及高度异质性。已有以啮齿动物模型用来了解前列腺器官的发生、发展，但人类与啮齿动物前列腺在后期发育过程中存在差异[6]，故成功建立具

收稿日期：2023-10-11
作者简介：陈美琪，硕士研究生，研究方向：临床个体化用药。
通信作者：王卓，主任药师，研究方向：临床个体化用药。
基金项目：国家自然科学基金面上项目资助(81870520)；国家自然科学青年科学基金项目资助(82304691)

有患者表型的临床前模型是开展 PCa 研究的首要任务。人类细胞系模型及患者来源的异种移植（patient-derived xenotransplantation，PDX）等是目前广泛应用的临床前模型，但其不代表患者异质性，不适于高通量筛选，且培育时间长，限制其应用[7]。类器官的出现为建立 PCa 模型开创新的视角。类器官与患者原发肿瘤的药物治疗反应具有高度相关性，此外，其还便于体外高通量药物筛选。本文主要论述现有的 PCa 模型及类器官在 PCa 中的应用优势和限制。

1 PCa 经典模型

1.1 人细胞系模型

自 HeLa 细胞株开发以来，已有多种恶性肿瘤细胞株被用于确定恶性肿瘤发生机制、定位治疗反应的标记物，具有无限增殖能力及对高通量药物筛选的适应性等优点。该细胞系是由原癌组织、转移恶性肿瘤组织和原位癌或转移癌组织的异种移植瘤模型建立。DU145、PC-3 及 LNCaP 是 PCa 研究中应用最广泛的细胞株，但可能出现雄激素受体（androgen receptor，AR）不表达等情况，而 AR 是 PCa 发育和进展的关键驱动因子。尽管 2 维细胞系模型有易于处理、维护等优势，但由于该细胞系随着时间推移会发生多个额外突变，导致其细胞形态、极性等发生改变，产生的恶性肿瘤细胞系并不能代表人类肿瘤的多样性，并缺乏肿瘤微环境。

1.2 PDX 模型

从患者获取肿瘤组织样本，植入宿主小鼠体内，使肿瘤组织在一段时间内保持存活[8]，即 PDX，其是一种重要的临床前恶性肿瘤模型。Gittes 等[9]用裸鼠成功建成首个 PDX 模型，证明其保留人类 PCa 的组织学特征。在免疫缺陷小鼠体内生长的 PDX 高度还原肿瘤中存在的关键分子畸变，真实再现患者肿瘤的分子多样性、细胞异质性和组织学特点[10]，使研究人员能够获得真实反映患者临床反应的临床前结果。虽 PDX 模型的使用有助于克服与细胞系使用相关的局限性，保留供体肿瘤的主要特征，但在小鼠体内植入并获得药物验证通常需要 6 个月，且建成率低，故在患者临床实际治疗中并不适用。此外，PDXs 模型只适用于检测有限数量的药物组合，而不适于高通量筛选。

2 PCa 类器官模型

2.1 患者源性类器官

来源于组织或肿瘤特异性干细胞的患者衍生类器官（patient-derived organoids，PDOs）在体内维持原始肿瘤遗传，保留患者原组织的结构和功能，重现其内在的异质性。建立 PCa 来源的 PDOs 模型可预测药物的疗效反应，有望在精密医学和临床研究中应用。目前用于研究神经内分泌 PCa 的模型较少[11]。Puca 等[12]从 25 例转移性 PCa 患者获得新鲜肿瘤组织，成功培养出神经内分泌 PCa 类器官。这一类器官的成功建立为研究罕见恶性肿瘤表型提供新策略，证实 PDOs 与相应患者肿瘤在基因组、转录组和表观基因组特征方面的一致性。Sheno 等[13]研究发现，与 PDX、2 维细胞系培养等模型相比，PDOs 这种体外培养的 3 维微器官模型不但简化动物试验的繁杂性，且能还原细胞或组织在体内的转化过程，可用以验证抗肿瘤药物的有效性[14]。PDOs 能够正确评估药物毒性，并有可能确定最佳有效剂量，为符合多重治疗条件的患者确定最佳药物选择提供有效策略[15]。PDOs 能识别转移特异性治疗，但恶性肿瘤的反应程度有明显差异，解决这个问题的一个可能方法是使用循环肿瘤细胞（circulating tumor cell，CTCs）来建立类器官。

2.2 CTCs 衍生的类器官

CTCs 像种子一样，从原发肿瘤和（或）转移病灶脱落到血管系统，随血液流动并在远处器官扎根生长。Gao 等[16]成功从活检标本和 CTCs 中培养 PCa，证实能利用 CTCs 成功培育出 PCa 类器官。CTCs 来源的类器官对揭示肿瘤细胞传播的机制、识别与治疗相关的表达基因和信号通路有较大帮助[17]，但 CTCs 来源类器官培养成功率相对较低[16]，约为 5%，而建立短期 PCa PDOs（60% ～ 70%）的成功率

明显更高。

2.3 诱导多能干细胞（induced pluripotent stem cells，iPSCs）衍生的类器官

Takahashi 等[18]证明，同时添加 4 种转录因子（分别为 Oct3/4，Sox2，Klf4，c-Myc）进行重编程，可从成年体细胞中产生具有与胚胎干细胞（embryonic stem cells，ESCs）相同形态和生长特征的干细胞，即 iPSCs。

近年来，iPSCs 衍生的类器官模型已成为研究人前列腺器官的替代方法[6]。人类前列腺发育存在较大差距，由于胎儿前列腺组织的稀缺性和伦理问题，iPSCs 分为不同发育阶段的前列腺组织来解决这一问题[19]。此外，iPSCs 具有患者特异性，可模仿患者的表型。除基因编辑的可能性，还能通过敲入或敲除目标基因来纠正疾病特异性突变，iPSCs 正成为疾病建模和个性化医学的首选方法之一[20]，但 iPSCs 在诱导分化后可能产生的一些人体内没有的细胞类型。在通过识别恶性肿瘤的起源细胞和恶性肿瘤干细胞、实现恶性肿瘤早期阶段的早发现早治疗，iPSCs 将成为研究 PCa 的有利工具，并为重新探索肿瘤生物学的基本概念和基本原则搭建一个新的平台。

2.4 PDX 来源的类器官

Beshiri 等[21]报道 PDX 来源的类器官生物库，通过处理 20 个 LuCaP- CRPC-PDX 模型，对晚期 PC 亚型进行建模，结果 20 个 PDX 均建立增殖类器官，其中 11 个可长期增殖，该模型可能为研究 PCa 的基因组学、药物治疗反应和疾病进展提供创新平台。该 PDX- 类器官模型与单独的 PDX 模型相比，培养成本更低，时间更短，易进行基因改造，也进一步弥补 PDX 不适于高通量药物筛选的缺点，并在患者原始材料稀缺时为类器官的建立提供额外的组织来源[22]。Jansson 等[23]用 15 例人类 CRPC-LuCaP-PDX 衍生类器官模型进行 110 种药物的反应分析，表明热休克蛋白 90 抑制剂对 CRPC 有明显抑制作用。PDX 衍生的类器官也可用于交叉耐药机制的研究，以及探索现有药物联合使用的最佳用法，并测试该亚型内的相关治疗靶点。PDX 衍生的类器官可作为开辟高通量药物发现的基础。

3 PCa 类器官的应用

PCa 类器官作为一种新型的体外临床前疾病模型具有良好的应用前景。利用类器官对恶性肿瘤进行建模，研究耐药机制、药物研发、药物疗效评测和精准医学已成为恶性肿瘤领域的主要方向。

通过 PCa 类器官识别肿瘤起始细胞，在细胞水平上调控其发生、发展，对于建立新的治疗策略非常重要。抗肿瘤治疗中的主要临床问题是患者对抗肿瘤药物产生耐药性[24]，原发性耐药在 CRPC 中常见，继发性耐药在治疗中不可避免。PCa 干细胞（PCa stem cells，PrCSCs）与去势抵抗疾病的发展有关，人类 PCa 细胞系 22RV1 通过 4 种转录因子诱导为 iPSC，为研究 PrCSCs 的起源以及转化过程做出极大贡献[25]。Beshiri 等[21]通过 LuCaP-CRPC-PDX 模型根据，证实 AR 拮抗剂恩扎鲁胺（enzalutamide）具有显著抑制作用，AR 非依赖性神经内分泌 LuCaPs 对恩扎鲁胺抑制具有耐药性。Lange 等[26]首次对 PCa 中 β1,6- 乙酰氨基葡萄糖基转移酶 -5b 进行描述，提出 β(1,6)- 支链低聚糖在 PCa 进展中的机制相关性问题，发现 β(1,6)- 支链低聚糖是 PCa 患者肿瘤进展的标志物。由于肿瘤微环境可通过旁分泌信号、细胞与基质的相互作用，或通过选择干细胞或神经内分泌细胞等多种途径来促进耐药性[27]，体外培养 PCa 类器官有可能为治疗药物研发以及耐药机制研究提供新见解。

进展为 CRPC 是很多 PCa 患者无法治愈的根本原因，为使 CRPC 患者获得最大生存效益，探寻 CRPC 的最佳药物组合及治疗顺序是重中之重[28]。Gao 等[16]报告 PCa 患者来源的类器官细胞系用于检测第 2 代雄激素受体拮抗剂恩扎鲁胺和胞内磷脂酰肌醇激酶途径抑制剂依维莫司（everolimus）的有效性[29]。利用患者肿瘤来源的类器官进行基因测试和药物敏感性分析可能是治疗前预测有效药物的补充方法。

精准医学又叫个性化治疗，旨在开发针对患者的个性化治疗策略。精准医学对死亡风险高、易复发的 PCa 患者可能实现获益最大化[30]。已证明肿瘤类器官在保留其来源组织、肿瘤的关键遗传因子、表型特征及内在异质性方面具有优势，因此有可能被用于预测个体化治疗反应的效果[31]。Cheaito 等[32]从接受根治性前列腺切除术治疗的未成年患者身上获得 70 份组织样本，用于培养 PCa 类器官，该 PCa 类器官模拟相应亲代肿瘤组织的异质性，且证实类器官作为体外模型具有评估个性化治疗反应的潜力。根据其基因表达，类器官可能构成药物筛选平台，帮助个性化抗肿瘤治疗[33]。3 维细胞培养模型对于以患者为导向的诊断和治疗至关重要，其已被用于培养和扩大患者细胞群，以观察疾病进展及药物疗效[34]，进而指导临床决策。类器官的另一个重要优点是可将患者的恶性肿瘤组织与健康组织同时进行培养。抗肿瘤治疗中的主要限制因素在于清除肿瘤细胞的同时往往会杀死正常细胞，类器官对优化抗肿瘤治疗以及最大程度改善患者生活质量均有益。因此，类器官仅有助于个体化治疗，以根除恶性肿瘤细胞，还可预防潜在的治疗不良反应[31]。

虽然类器官模型优于其他体外模型，但也有其局限性。一个关键问题是建立肿瘤类器官培养的效率，优化培养条件、提高培养效率是加速类器官开发和应用的先决条件。培养基中干扰生长因子的存在影响类器官发育，微环境和免疫系统的缺乏，以及影响药物反应的类器官的空间分布和大小也是亟需解决的问题。如何突破限制，开发更有效的体外模型是当下的研究重点。

4 展望

2022 年 9 月美国 FDA 颁布一项现代化法案 2.0，可使用可替代动物试验的方法来研发药品和生物制品，且该法案也将“临床前试验（含动物试验）”替换为“非临床试验”，将器官芯片和微生理系统、计算机建模、其他非人类或人类生物学试验方法（如生物打印）纳入其中。美国环境保护局承诺，到 2025 年，将削减哺乳动物试验相关项目 30% 的经费，也间接加速类器官技术的发展。作为一种新型的体外临床前疾病模型，PCa类器官具有良好的应用前景。类器官是最能反映患者肿瘤重要特征的模型，也是研究药物耐药机制、提高药物高通量筛选的最佳平台。该模型不仅可结合 PDX 用于研究 PCa 发病机制，还可在体外观察肿瘤细胞或组织的生长发育，研究不同突变对疾病发生、发展的影响。从个体化治疗的角度来看，利用不同来源的 PCa 样本可以建立不同的 PCa 类器官。结合高通量筛选技术，可批量评估抗 PCa 药物。该模型为了解雄激素耐药的分子机制和筛选潜在的治疗靶点提供有效指导。

参考文献：

[1] Rizzo A, Santoni M, Mollica V, *et al*. Microbiota and prostate cancer[J]. Semin Cancer Biol, 2022, 86(Pt 3): 1058-1065.

[2] Francis JC, Swain A. Prostate organogenesis[J]. Cold Spring Harb Perspect Med, 2018, 8(7): a030353.

[3] Wasim S, Lee SY, Kim J. Complexities of prostate cancer[J]. Int J Mol Sci, 2022, 23(22): 14257.

[4] Huang Y, Cheng C, Zhang C, *et al*. Advances in prostate cancer research models: from transgenic mice to tumor xenografting models[J]. Asian J Urol, 2016, 3(2): 64-74.

[5] Achard V, Putora PM, Omlin A, *et al*. Metastatic prostate cancer: treatment options[J]. Oncology, 2022, 100(1): 48-59.

[6] Buskin A, Singh P, Lorenz O, *et al*. A review of prostate organogenesis and a role for iPSC-derived prostate organoids to study prostate development and disease[J]. Int J Mol Sci, 2021, 22(23): 13097.

[7] Namekawa T, Ikeda K, Horie-Inoue K, *et al*. Application of prostate cancer models for preclinical study: advantages and limitations of cell lines, patient-derived xenografts, and three-dimensional culture of patient-derived cells[J]. Cells, 2019, 8(1): 74.

[8] Risbridger GP, Lawrence MG, Taylor RA. PDX: moving beyond drug screening to versatile models for research discovery[J]. J Endocr Soc, 2020, 4(11): bvaa132.

[9] Gittes RF. The nude mouse – its use as tumor-bearing model of the prostate[J]. Prog Clin Biol Res, 1980, 37: 31-37.

[10] Beshiri M, Agarwal S, Yin JJ, *et al*. Prostate organoids: emerging experimental tools for translational research[J]. J

Clin Invest, 2023, 133(10): e169616.

[11] Cacciatore A, Albino D, Catapano CV, *et al*. Preclinical models of neuroendocrine prostate cancer[J]. Curr Protoc, 2023, 3(5): e742.

[12] Puca L, Bareja R, Prandi D, *et al*. Patient derived organoids to model rare prostate cancer phenotypes[J]. Nat Commun, 2018, 9(1): 2404.

[13] Shenoy TR, Boysen G, Wang MY, *et al*. *CHD1* loss sensitizes prostate cancer to DNA damaging therapy by promoting error-prone double-strand break repair[J]. Ann Oncol, 2017, 28(7): 1495-1507.

[14] Vivarelli S, Candido S, Caruso G, *et al*. Patient-derived tumor organoids for drug repositioning in cancer care: a promising approach in the era of tailored treatment[J]. Cancers (Basel), 2020, 12(12): 3636.

[15] Corrò C, Novellasdemunt L, Li VSW. A brief history of organoids[J]. Am J Physiol Cell Physiol, 2020, 319(1): C151-C165.

[16] Gao D, Vela I, Sboner A, *et al*. Organoid cultures derived from patients with advanced prostate cancer[J]. Cell, 2014, 159(1): 176-187.

[17] Mizuno K, Beltran H. Future directions for precision oncology in prostate cancer[J]. Prostate, 2022, 82 Suppl 1(Suppl 1): S86-S96.

[18] Takahashi K, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors[J]. Cell, 2006, 126(4): 663-676.

[19] Yu Y, Jiang W. Pluripotent stem cell differentiation as an emerging model to study human prostate development[J]. Stem Cell Res Ther, 2020, 11(1): 285.

[20] Hepburn AC, Sims CHC, Buskin A, *et al*. Engineering prostate cancer from induced pluripotent stem cells – new opportunities to develop preclinical tools in prostate and prostate cancer studies[J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(3): 905.

[21] Beshiri ML, Tice CM, Tran C, *et al*. A PDX/organoid biobank of advanced prostate cancers captures genomic and phenotypic heterogeneity for disease modeling and therapeutic screening[J]. Clin Cancer Res, 2018, 24(17): 4332-4345.

[22] Gleave AM, Ci X, Lin D, *et al*. A synopsis of prostate organoid methodologies, applications, and limitations[J]. Prostate, 2020, 80(6): 518-526.

[23] Jansson KH, Tucker JB, Stahl LE, *et al*. High-throughput screens identify HSP90 inhibitors as potent therapeutics that target inter-related growth and survival pathways in advanced prostate cancer[J]. Sci Rep, 2018, 8(1): 17239.

[24] Elbadawy M, Abugomaa A, Yamawaki H, *et al*. Development of prostate cancer organoid culture models in basic medicine and translational research[J]. Cancers (Basel), 2020, 12(4): 777.

[25] Zhang Y, Chen B, Xu P, *et al*. Reprogramming prostate cancer cells into induced pluripotent stem cells: a promising model of prostate cancer stem cell research[J]. Cell Reprogram, 2020, 22(5): 262-268.

[26] Lange T, Ullrich S, Müller I, *et al*. Human prostate cancer in a clinically relevant xenograft mouse model: identification of β(1, 6)-branched oligosaccharides as a marker of tumor progression[J]. Clin Cancer Res, 2012, 18(5): 1364-1373.

[27] Centenera MM, Raj GV, Knudsen KE, *et al*. *Ex vivo* culture of human prostate tissue and drug development[J]. Nat Rev Urol, 2013, 10(8): 483-487.

[28] Nuhn P, De Bono JS, Fizazi K, *et al*. Update on systemic prostate cancer therapies: management of metastatic castration-resistant prostate cancer in the era of precision oncology[J]. Eur Urol, 2019, 75(1): 88-99.

[29] Chakraborty G, Nandakumar S, Hirani R, *et al*. The impact of PIK3R1 mutations and insulin-PI3K-glycolytic pathway regulation in prostate cancer[J]. Clin Cancer Res, 2022, 28(16): 3603-3617.

[30] Joshi A, Roberts MJ, Alinezhad S, *et al*. Challenges, applications and future directions of precision medicine in prostate cancer – the role of organoids and patient-derived xenografts[J]. BJU Int, 2020, 126(1): 65-72.

[31] Verduin M, Hoeben A, De Ruysscher D, *et al*. Patient-derived cancer organoids as predictors of treatment response[J]. Front Oncol, 2021, 11: 641980.

[32] Cheaito K, Bahmad HF, Hadadeh O, *et al*. Establishment and characterization of prostate organoids from treatment-naïve patients with prostate cancer[J]. Oncol Lett, 2022, 23(1): 6.

[33] Tang F, Xu D, Wang S, *et al*. Chromatin profiles classify castration-resistant prostate cancers suggesting therapeutic targets[J]. Science, 2022, 376(6596): eabe1505.

[34] Mazzocchi A, Soker S, Skardal A. 3D bioprinting for high-throughput screening: drug screening, disease modeling, and precision medicine applications[J]. Appl Phys Rev, 2019, 6(1): 011302.

（编辑：沈佳婕）