·综述·

患者来源的外植体应用于疾病研究和新药研发研究

刘姿彤,刘珉宇*

(中国医药工业研究总院/上海医药工业研究院有限公司/先导物成药性研究全国重点实验室,上海 200437)

[摘要] 目前,患者来源的外植体(patient-derived explants,PDEs)仍缺乏统一的定义,综合多方研究,本文将其定义为"通过使用活组织切片技术从活组织中获得的保留了细胞活性、完整的组织成分和细胞分布特征的组织薄片"。PDEs技术已存在多年,但仍未在新药研究及临床转化研究中广泛应用;为了改善PDEs的培养体系,并将更多的分析技术与PDEs体系相结合,使其能够在较少组织条件下实现更多标志物的检测。PDEs作为一种未经解构的离体模型,可以保留原始组织细胞类型、细胞分布和细胞活性,且建成率高、检测周期短,适用于药敏测试和机制相关研究,特别是在肿瘤相关的药敏检测和免疫研究方面具有巨大潜力。因此,PDEs是疾病研究和新药研发的强大离体模型。

[关键词] 患者来源的外植体;培养;检测分析;应用

[中图分类号] R95 [文献标志码] A [文章编号] 1003-3734(2026)09-0932-10

Patient-derived explants are suitable *ex vivo* models for disease research and new drug development

LIU Zi-tong, LIU Min-yu*

(*China Pharmaceutical Industry Research Institute*, *Shanghai Institute of Pharmaceutical Industry Co., Ltd.*, *National Key Laboratory of Drugability Research for Lead Compounds*, *Shanghai* 200437, *China*)

[**Abstract**] Patient-derived explants (PDEs) still lack a unified definition. Based on a comprehensive review of multiple studies, they are defined herein as "thin slices of tissue obtained from living tissues using tissue slicing techniques that retain cellular activity, intact tissue composition, and cellular distribution characteristics". PDEs have been in existence for many years, but they have not yet been widely used in new drug research or clinical translational studies. Efforts to improve the culture system of PDEs and integrate more analytical techniques with the PDEs have enabled the detection of more markers using fewer tissues. As an undeconstructed *ex vivo* model, PDEs preserve the original tissue cell types, cellular distribution, and cellular activity and feature a high establishment rate and a short detection cycle, making them suitable for drug sensitivity testing and mechanism-related studies. In particular, they show great potential in tumour-related drug sensitivity assays and immunological studies. Therefore, PDEs represent powerful *ex vivo* models for disease research and new drug development.

[**Key words**] patient-derived explants; culture; endpoint analysis; application

外植体(explants)定义最早来源于植物学,即"植物组织培养中作为离体培养材料的器官或组织的片段,并移入新的培养基进行继代培养,这种切段称为外植体",在植物学中外植体应当是离体的、有功能的、组织切段来源的片段,以上特点与患者来源的外植体(patient-derived explants,PDEs)的特点相近,我们认为用"外植体"命名"动物"来源的离体组织培养体系是合理的。目前对于"PDEs"的定义仍不统一,通常与患者来源的组织切片(patinet-derived tissue slices)互换使用,有时也被称为器官型培养物(organotypic cultures)[1]或精密组织

[作者简介] 刘姿彤,女,硕士研究生,主要从事代谢相关疾病的新药研究。E-mail:L1198946870@163.com。

[通讯作者] *刘珉宇,女,研究员,博士研究生,主要从事自身免疫、代谢、纤维化及抗肿瘤领域研究。E-mail:13761241986@163.com。

[DOI]10.20251/j.cnki.1003-3734.2026.09.006

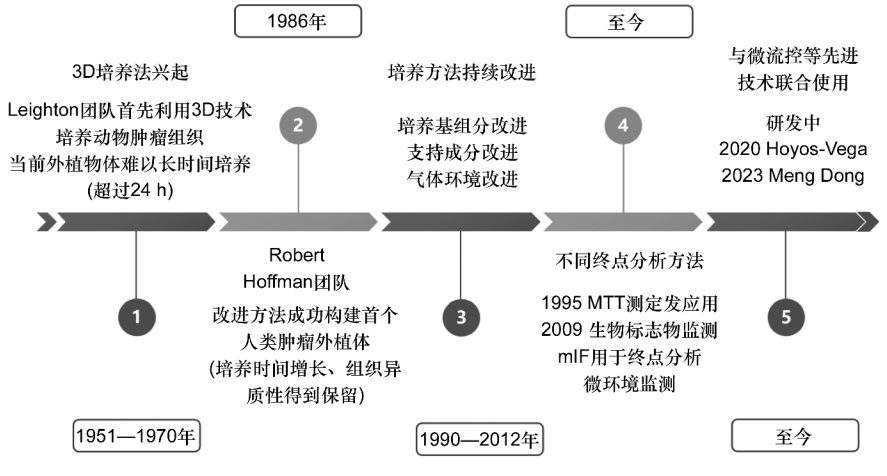
切片(precision-cut slices),如何厘清不同名称间的特点与区别是目前首要解决的问题。“precision-cut slices”多数为非肿瘤来源的组织,且与“patinet-derived tissue slices”一样,培养物厚度多为 150 ~ 400 μm,主要用于疾病模型复制及相关机制的研究。“organotypic cultures”培养物多为 150 ~ 400 μm,而“PDEs”培养物厚度从 150 ~ 400 μm 到 1 mm 不等,研究范围从癌症到非癌症相关疾病,目的涉及药物反应预测、疾病建模、机制研究。Adine 等[2]构建了名为“patient-derived tumor explants”的离体培养系统,利用振动切片机将患者来源的肿瘤组织切割成 300 μm 的组织薄片,并置于不同理化性质水凝胶的支持物上,通过分子、细胞和组织三重水平分析评估水凝胶的刚性和黏附性对肿瘤来源 PDEs 的活性、复杂性和异质性保留的影响。经检测,一定条件下的水凝胶维持了患者肿瘤来源 PDEs 的活性、基因谱表达、免疫区室及细胞外基质成分和细胞间相互作用。

总结相关研究成果,PDEs 应当是“通过使用活组织切片技术从活组织中获得的保留了细胞活性、较完整的组织成分和细胞分布特征的组织薄片”。

1 PDEs 的发展

PDEs 培养物优于还原论体外模型,例如:基于类器官的模型,因为 PDEs 保留原始组织直接培养,对细胞-细胞和细胞-细胞外基质(extra cellular matrix,ECM)相互作用的机械破坏或酶解破坏最小,避免了脱离实验目标的建模与检测。PDEs 允许评估细胞在其自身 ECM 和微环境内的行为,通过实时多重成像,还可以在原位可视化丰富的微环境成分[3];免疫组分的保留对于免疫药物的研究和免疫疗法的评估至关重要[4];PDEs 的培养无需扩增步骤且模型构建成功率更高,对样本量的要求更低,能够实现微量穿刺、活检组织的体外药敏模型构建,因此,可通过最大速度进行药物处理及药物敏感性、耐药性测定分析[5]。

直接取用组织进行培养的概念由 Leighton 于 1951 年提出[6],其团队利用海绵组织对包括动物卵巢癌、恶性黑色素瘤、肝癌晚期等来源的肿瘤组织进行培养,但是肿瘤组织结构易崩解,难以维持[7-8]。Browning 等[9]改进了培养方法,使用不锈钢网支撑培养人类十二指肠及空肠完整未经切割的活检组织,虽然绒毛结构、隐窝结构、细胞活性和脂肪摄取能力仍然保留,但是仅能存活 24 h,且组织形态有改变,出现多个坏死区域,说明培养效果仍不理想。Freeman 等[10]进一步改进培养方法,取用患者来源的肿瘤组织,将其切割成 4 mm^3 的小块并放置在胶原蛋白凝胶支持物上,除基础培养基组分外还额外添加多种氨基酸成分。这种培养方式不仅可以长时间维持组织活性,还可以保持类似的肿瘤体内特性,包括三维生长、组织结构、分化功能以及肿瘤内多种细胞的生长和致瘤性。见图 1。



mIF:多重免疫荧光(multi-immuno fluorescence)

图 1 PDEs 培养分析技术发展时间线

在较长一段时间内,该技术仍未广泛应用于临床药物转化研究,造成这种情况的原因可能与其培养方法有关,较早的 PDEs 培养使得组织离体维持时间较短(多数情况难以连续培养超过 7 d)。后续

更多团队提出不同办法改进 PDEs 的构建过程和培养方法,并将更多的检测分析技术与 PDEs 模型相结合,拓宽了外植体可检测的指标,实现了 PDEs 更广泛的应用场景。

2 PDEs 的构建与培养

如图 2 所示,PDEs 构建步骤主要包括切片、培养、外源物干预、检测样本收集和检测分析五大步骤。影响 PDEs 培养状态的主要因素是氧气供给和培养基配方。由于组织的特异性,想要构建标准化的培养基配方是十分具有挑战性的事情,相同的因子在不同组织培养中可能产生不同的效果[11]。同时,在 PDEs 培养体系中加入外源可溶性因子有一定概率会掩盖某些细胞与细胞之间的相互作用。通过改进气体和培养基的分布和扩散来改进 PDEs 的培养状态相对简单且效果显著。为此研究者优化了 PDEs 的构建方法,改进其培养系统,包括静态培养系统(浸没式培养、支撑培养)和动态培养系统(旋转/振动平台培养、微流控系统),逐步优化了 PDEs 的培养条件,延长外植体的存活时间并更好地保留其细胞活性和组织形态。

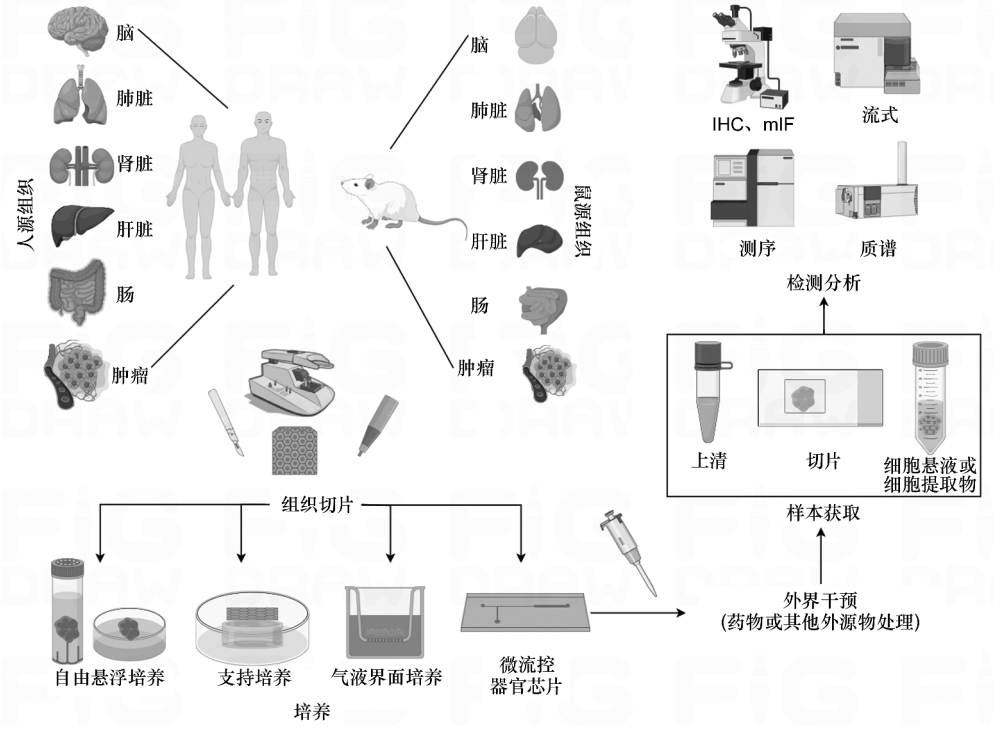


图 2 PDEs 模型培养分析流程图

2.1 PDEs 的获取以及预处理

在外植体技术发展的早期阶段,切片的获取主要还是依赖实验者手动进行切割[7,12],但随着研究的逐渐深入,发现过厚及过薄的组织切片不利于外植体的培养[13],厚度适宜的切片才能促进氧气在组织中扩散,并依靠毛细管作用将培养基带入组织中[14]。同时,在标本较少的情况下增加从组织中获得的切片数量是提高 PDEs 检测通量最直接的方法。精确振动切片机的问世和发展使研究者们可以获得厚度适宜且更加均匀的组织切片,可以促进营养物质和氧气在组织中的均匀扩散,从而避免组织坏死[15]。之后 7 年,琼脂灌注方法的引入和发展为肺脏组织等柔软而脆弱的结构提供了足够的结构支撑,使其更适合切片[16-17]。

2.2 PDEs 的培养以及系统优化

2.2.1 静态培养

2.2.1.1 浸没式培养 对于 PDEs 培养,最简单的方法就是将其完全浸没于培养基中进行静止培养,无需任何支撑,这样的培养方式简单便捷,成本较低,但是由于氧气供应不足,外植体培养时间通常较短[18]。浸没式培养还有一个缺点是在培养的过程中上皮细胞可能会向组织表面迁移,形成“胶囊”状组织[19]。

2.2.1.2 支持培养 Leighton 等[6]利用纤维素海绵

培养了第一个小鼠肿瘤 PDEs,随后 Freeman 等[10]首次报告了在胶原水凝胶上成功对手术切除的人类肿瘤碎片进行离体培养。越来越多的生物材料研究强调了如何通过改变支撑材料的理化性质来改善 PDEs 培养效果。许多团队尝试使用基底膜提取物(basement membrane extract,BME)作为支撑培养 PDEs,但是其活性仅能维持 2 d 左右,原因可能是 BME 会引发外植体的非特异性免疫反应[20]。后续研究者发现水凝胶更适用于 PDEs 的支撑,通过改变水凝胶中脱细胞 ECM(dECM)的浓度或与其他生化材料交联来改变水凝胶刚度,以使其适用于不同软硬度的组织。Adine 等[2]通过调节水凝胶的刚度、降解性和黏附性评估上述条件对 PDEs 组织完整性、活力和结构的影响,结果表明,优化条件后水凝胶可以在较长时间内维持患者肿瘤来源外植体的活性,保存 PDEs 中肿瘤细胞、癌症相关成纤维细胞以及各种免疫细胞群和亚群,保留原始肿瘤的基因谱表达与细胞间相互作用。除此之外,人工合成聚合物与天然生物材料的杂交可以进一步提高基质的生物相容性,影响细胞的生长状态和相关性质[21]。

2.2.1.3 静态气液界面培养 为寻求更好的方法改善气体在培养体系中的扩散,优化 PDEs 的培养条件,研究者将视线转向了气液界面培养(air-liquid interface,ALI)。许多研究小组采用了金属网(如钛网架)或插入式细胞培养器(cell culture inserts)作为支撑物用于 PDEs 培养。在多种不同的 ALI 培养体系中,插入式细胞培养器(也被称作 Transwell 小室)因使用简易便利最为常用。其具有高渗透性和多孔性的纤维结构,有利于气体和营养物质穿过孔洞运输至 PDEs 的表面,可以形成良好的 ALI 培养环境[22]。

2.2.2 动态培养

2.2.2.1 旋转/振动平台培养 科学家在研究过程中发现摇摆或旋转平台可以促进气体和其他可溶性因子的扩散以延长外植体的存活时间,优化培养效果。Davies 等[23]研究发现,与静止浸没式培养相比,乳腺癌和肺癌的外植体在旋转培养装置中得到更好的培养,细胞坏死明显减少,应激标记物表达降低。Abreu 等[24]同样构建了基于搅拌的培养系统,培养了 25 个卵巢癌来源肿瘤外植体长达 30 d,成功率高达 100%,培养过程中经检测发现外植体保留了不同分型卵巢癌的肿瘤结构和异质性,复制了原始肿瘤的特征。

2.2.2.2 微流控系统联用培养 组织切片中缺乏功能性脉管系统,氧气扩散受到多个变量的影响,这可能导致 PDEs 内缺氧[25]。微流控装置通过不同培养基或气体的持续灌注,有利于维持 PDEs 的活性,可以在较长时间内维持组织的微环境和结构,可用于培养不同组织来源的 PDEs。Dong 等[26]构建了一套新型灌注空气培养系统(perfusion air culture,PAC)来培养 PDEs。如图 3 所示,将 PDEs 夹在棉网或脱细胞猪肠支架中并放置于器官型支架之间,通过外接注射泵向组织源源不断输送培养介质。研究表明,与普通的插入式细胞培养器 ALI 培养相比,这样的培养系统可以从两侧不断进行气体与培养介质的供给,其中外植体支持物可以充当脉管系统,更可以支撑保护组织外植体,在新型 PAC 系统中培养的肿瘤来源 PDEs 更好地保留了肿瘤异质性和微环境。

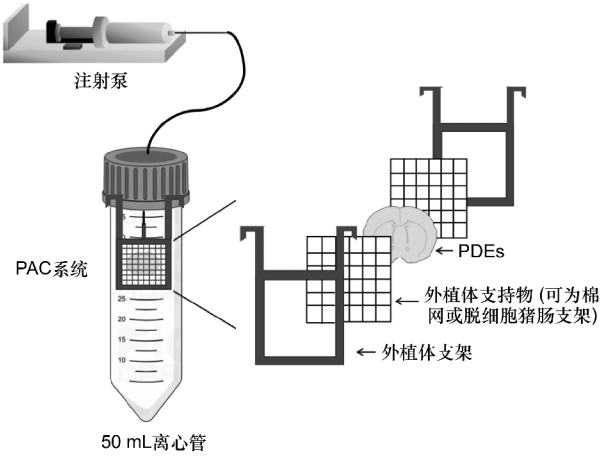


图 3 PAC 系统主体及分解示意图

3 PDEs 的检测分析

除 PDEs 培养技术在不断发展外,用于检测分析的各种技术也在持续不断发展。PDEs 使用外源物处理后,可以从分子、组织和细胞 3 个水平对相关标志物进行评估。

3.1 分子水平检测分析

PDEs 可以均质后使用包括聚合酶链式反应(polymerase chain reaction,PCR)、Western Blot 法、蛋白质组学、基因组学、代谢组学在内的多种技术评估 PDEs 内 DNA、RNA、蛋白质的变化[27-28]。培养过程中取培养上清液通过酶联免疫吸附测定(enzyme-linked immunosorbent assay,Elisa)可以检测整个体系中代谢物质的变化,乳酸脱氢酶(LDH)释放也是细胞活性检测的主流方法。这样的分析方法可以在一定限度上消除因组织异质性带来的检

测误差,提升检测的准确性。

研究表明,肿瘤微环境(tumor micro-environment,TME)中白细胞介素-8(interleukin-8,IL-8)主要由肿瘤细胞释放,髓系白细胞也会释放少量 IL-8。肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor-α,TNF-α)和 IL-1β 诱导 IL-8 转录。为研究 IL-8 与免疫检查点抑制剂(immune checkpoint inhibitors,ICIs)治疗不良反应之间的联系,Olivera 等[28]构建了肾透明细胞癌和子宫内膜癌患者来源的 PDEs,利用 qPCR 和 Elisa 评估 TNFα 和 IL-1β 抑制剂处理前后肿瘤中和上清中 IL-8 相关标志物变化。结果表明,TNFα 及 IL-1β 会诱导肿瘤中 IL-8 转录,并促使上清中 IL-8 分泌增多,增加抑制剂后相关表达分泌明显减少。

近期的文献已经开始更深入地描述组织内的复杂生态系统,尤其是一些细胞亚群的变化以阐明培养过程中 PDEs 的变化情况。在单细胞水平上对整个基因组或转录组进行测序,可以用来对 PDEs 进行更深层次的表征,并补充现有的表征方法[29]。Peng 等[30]使用单细胞 RNA 测序(ScRNAseq)验证了前期细胞空间结构,分析出可能的细胞间相互作用机制,强调免疫细胞和肿瘤细胞之间的空间关系可能会影响临床结果。

3.2 细胞水平检测分析

PDEs 可以使用传统检测方法如 AlamarBlue、噻唑蓝(MTT)测定分析细胞活力[31-32],例如:Jeong 等[33]使用 MTT 测定分析评估 2D 培养和 3D 打印胶原蛋白培养冻存黑色素肿瘤来源外植体的存活情况。也可以测量细胞内腺嘌呤核苷三磷酸(adenosine triphosphate,ATP)水平如 CellTiter-Glo(CTG)发光细胞活力测定评估细胞活力或细胞毒性[34]。

使用流式细胞术可以研究 PDEs 中细胞类型,质谱流式细胞术利用带有金属同位素标签的抗体对细胞进行标记可以检测细胞分型与功能。Bellomo 等[35]构建了胰腺导管腺癌患者来源的肝转移外植体,使用流式细胞术和质谱细胞术结合表征化疗对转移性疾病进展和免疫细胞浸润的影响。T 细胞在胸腺的特殊微环境中经历关键的发育过程,最终生成成熟的 T 细胞群。胸腺内 T 细胞的阳性选择与阴性选择是关键步骤之一,如图 4 所示,普通的二维培养难以复现该过程。Sood 等[36]构建了胸腺 PDEs,保留完整的皮质区和髓质区,为 T 细胞胸腺选择提供了高度组织化的胸腺微环境,使用流式细胞术可以定性定量 T 细胞的亚型,明确 T 细胞在胸腺内的阳性或阴性选择行为。

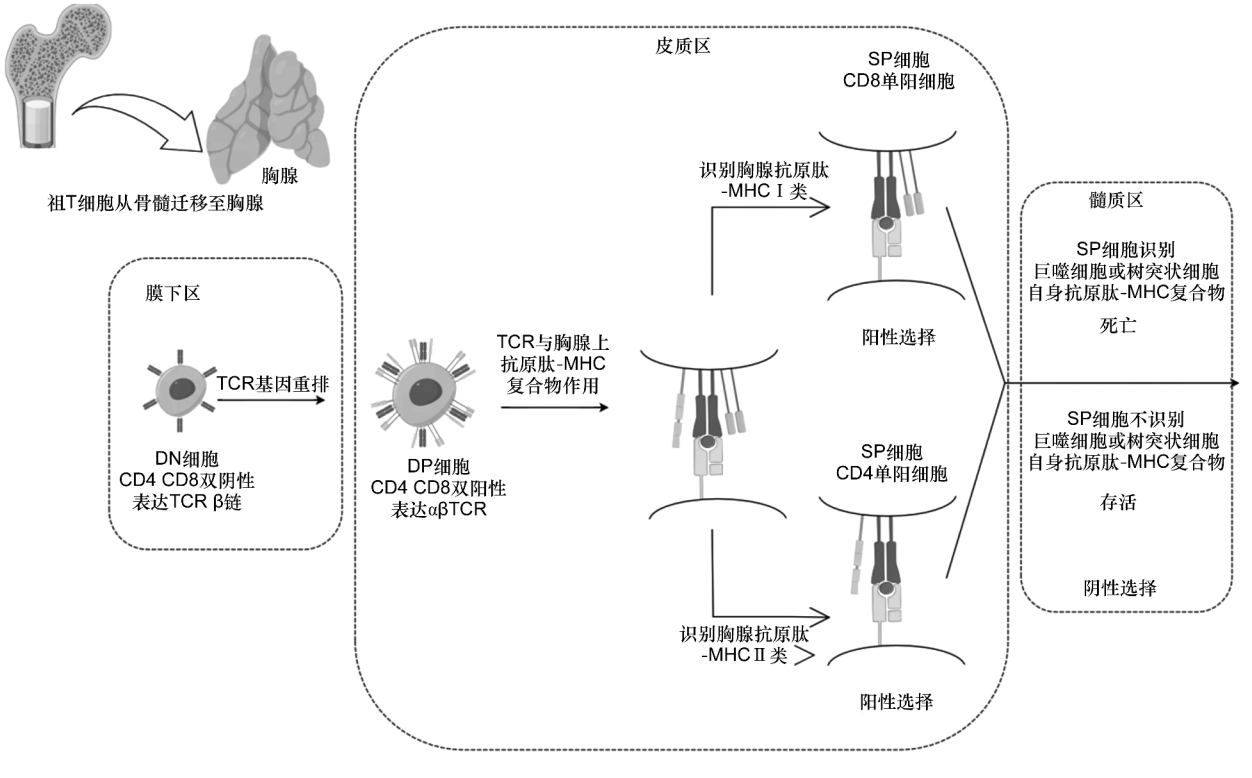


图 4 胸腺内 T 细胞阳性选择和阴性选择

3.3 组织水平检测分析

保留完整的 PDEs 进行分析的优点之一是可以研究同一样本内的药物反应、病理学和组织异质性之间的关系。可以用于分析组织的异质性和空间关系。HE 染色几乎是所有外植体研究中必有的分析方法,Naipal 等[21]利用 HE 染色分析阿霉素和环磷酰胺处理后 PDEs 细胞核形态的变化,来评价药物对于细胞的杀伤效果。免疫组织化学染色(immunohisto chemical staining,IHC)也是较常用的分析方法,将药物处理后的组织通过固定包埋切片后,选择合适的抗体对切片上的蛋白或其他标志物进行染色,评估外源物对 PDEs 的影响[37]。Gu 等[38]使用 IHC 标记信号转导子和转录激活子 5a/b(signal transducer and activator of transcription 5a/b,STAT5a/b)和 DNA 片段原位末端,评估 Stat5 抑制剂对前列腺癌患者来源 PDEs 中 Stat5a/b 的激活和细胞死亡的影响。结果表明药物会促进肿瘤细胞凋亡,但是对 Stat5 活性较高的前列腺癌 PDEs 才有较好的疗效。这种染色方法成熟且较为便宜,但是一次只能染一种抗原且无法较为便利地获取蛋白共定位和共表达信息。组织内所需测定的标志物往往不是单一的,尤其是免疫细胞亚群的鉴定需要多个标志物才能准确分析,传统的 IHC 难以实现该目的,尤其是在标本较少的情况下。

为了克服该问题,mIF 方法得到应用。mIF 不仅可以同时检测识别多个标志物,同时可以有效识别细胞间的空间关系。Peng 等[31]采用 mIF 对 553 例非小细胞肺癌组织切片进行 10 种标志物染色,评估了肺癌组织内免疫细胞和肿瘤细胞之间的空间结构,揭示了对预后有影响的细胞空间结构和可能存在的细胞间相互作用。

常用的检测分析技术大多是破坏性分析,在活细胞、活组织状态下追踪相关标志物的技术正在蓬勃发展。例如:使用与不同荧光团相连的无毒且稳定的量子点(quantum dots,QD)单独标记不同的细胞类型,用于研究细胞的时空动力学[39]。也可以与细胞分选技术相结合,通过空间光激活颜色编码的细胞地址标签(也称为 SPACECAT)在保持细胞活力的同时注释、跟踪和分离细胞,能够在组织内分析不同区域的复杂空间异质性[40]。时间空间探索技术和细胞标记技术的进步最终可能允许对组织和细胞进行动态研究,促进 PDEs 研究的发展。

4 PDEs 在癌症中的应用

癌症是一套复杂的生态系统,包括肿瘤细胞和嵌入细胞外基质中大量非肿瘤细胞。TME 包括多种免疫细胞、肿瘤相关成纤维细胞(cancer associated fibroblasts,CAFs)、内皮细胞、周细胞和各种其他组织驻留细胞类型[41-42]。近年来,单细胞和空间技术的出现使我们对肿瘤结构和肿瘤基质区异质性的理解发生了很大转变。同一肿瘤内的基质细胞以不同的状态存在,并且可能以不同的方式影响着肿瘤的发生发展[43]。PDEs 培养可以保存原始肿瘤的特异性组织结构和细胞微环境,可以用于预测患者的药物反应,探究抗癌药物的作用机制,也可以与免疫研究相结合,评估免疫细胞与肿瘤细胞的空间结构和相互作用,揭示影响预后的相关机制。

4.1 小分子药(化疗药和分子靶向药)的药物反应预测

在过去的几十年中,癌症治疗已经从基于解剖学和形态学的方法转变为基于分子生物学的方法,精准医学的发展使得治疗越来越个性化,基于基因组学的精准医学改变了肿瘤学,但在批准的临床适应证之外,大多数基因组突变的功能仍不明晰,这样的疗法仍有局限性[44-45]。在一项研究中,针对 1 200 例晚期癌症患者进行基因检测指导治疗,结果显示只有 1/3 的患者获得临床获益(完全或部分缓解或持续 16 周以上的疾病稳定)[46]。

与其他患者近端模型相比,PDEs 保留了人类实体瘤的许多特征,包括对肿瘤发生发展至关重要的微环境和细胞相互作用,更接近人体内肿瘤真实情况[11]。尽管由于肿瘤组织数量有限,PDEs 平台暂时不适合高通量筛选,但可以帮助患者评估药物的潜在反应,可以更快速地获得检测结果[47]。Ricciardelli 等[48]利用离体卵巢癌组织构建 PDEs,通过含半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶 3(Caspase 3)及 Ki67 免疫组化结果评估卡铂和透明质酸(细胞外基质分子抑制剂)处理后 PDEs 内细胞凋亡和增殖能力的改变。结果表明,卡铂会显著促进铂敏感型 PDEs 的凋亡,而对铂耐药 PDEs 则无明显影响,且卡铂与透明质酸共同处理的 PDEs 表现出明显的凋亡增加和增殖抑制,说明 PDEs 可以区分有反应者和无反应者,是评估药物有效性的潜在离体模型。Golan 等[47]构建了多种肿瘤来源的 PDEs,通过 HE 染色和 Ki67 染色评估药物处理后 PDEs 的活力,并与患者用药后效果进行比较,分析 PDEs 预测药效

的准确性。结果表明,PDEs 平台可以保留肿瘤微环境至少 5 d,且与临床结果显示出较高的关联性(预测特异性为 77.7%,敏感性为 96%)。

精准医学和个性化医疗的发展有望降低无反应者的占比和经典化疗药物不良反应发生率,PDE 有应用于大多数实体瘤的潜力,不涉及肿瘤细胞的选择性生长,可以区分有反应者和无反应者并快速得到检测结果,有望成为个性化肿瘤治疗的有效模型。

4.2 免疫药物反应预测与相关机制研究

肿瘤微环境由许多不同的细胞类型组成,包括免疫区室内的细胞、内皮细胞、CAFs 等,肿瘤细胞通过招募和重编程非癌宿主细胞以及重塑脉管系统和 ECM 来协调肿瘤支持环境。肿瘤细胞以及肿瘤相关骨髓细胞经常过表达程序性细胞死亡配体-1(programmed cell death ligand 1,PD-L1),该蛋白与 T 细胞上的程序性细胞死亡蛋白-1(programmed cell death protein 1,PD-1)结合抑制效应 T 细胞活化增殖从而促进免疫逃逸[43,49],同时还会抑制磷脂酰肌醇 3 激酶(phosphoinositide 3-kinase,PI3K)/蛋白激酶 B(protein kinase B,AKT)、Ras 蛋白(Rat sarcoma)/丝裂原活化的细胞外信号调节激酶(mitogen-activated extracellular signal-regulated kinase,MEK)/细胞外调节蛋白激酶(extracellular regulated protein kinases,ERK)等信号通路[50],促进肿瘤发生发展。

根据肿瘤发生的器官、肿瘤细胞的固有特征、肿瘤的分期和患者的特征,TME 的细胞组成和功能状态可能会有很大差异。因此,很难在体外构建合适的模型完美模拟肿瘤的这一特征。由于保留了原始肿瘤整体组织结构尤其是微环境的保留,肿瘤 PDEs 比其他用于评估免疫疗法的模型更具优势。

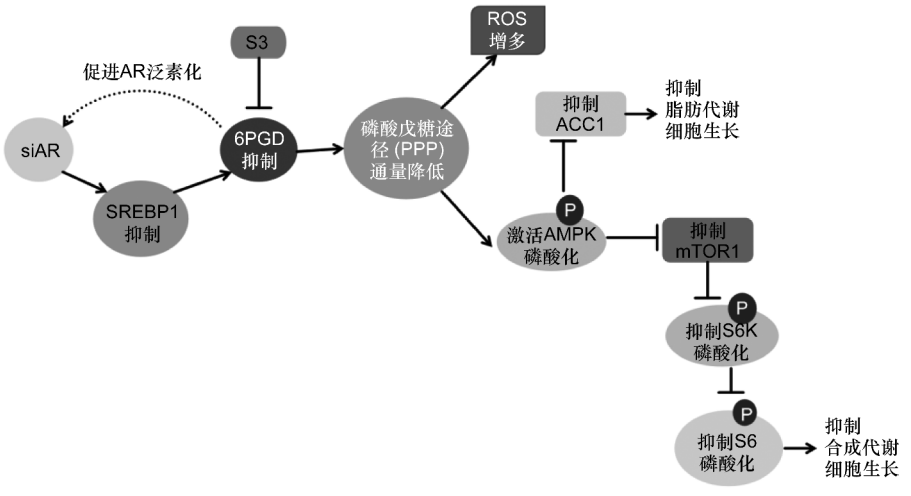
Lee 等[51]使用酶消化细胞表面抗原聚糖部分,然后构建了多个患者来源的 PDEs,分析去糖基化样本和未去糖基化样本 PD-L1 的信号强度,并将该结果与患者临床治疗结果进行对比。结果表明,去糖基化可以增强样本中 PD-L1 的信号强度,且去糖基化后的 PD-L1 评分与患者无进展生存期显著相关,说明去糖基化可以提高 PD-L1 作为免疫检查点治疗生物标志物的预测准确性。目前,使用肿瘤组织外植体进行免疫治疗检测尚不多见,然而,人们越来越认识到 PDEs 平台在药物反应预测和免疫机制研究方面具有重大潜力,为肿瘤免疫学的转化和相关机制研究提供了潜在的测试平台。

4.3 代谢相关及侵袭性机制研究

高通量分子测序和 3D 模型等技术的整合发展加深了人们对于肿瘤异质性和细胞间复杂作用的认知,针对致癌原因、肿瘤耐药性、肿瘤转移复发机制的研究也越来越深入。但是肿瘤的临床治疗的结果与癌症研究的发展并不匹配[52]。TME 和细胞间相互作用会影响细胞增殖、分化、信号转导以及耐药性[53],相关机制研究所用的临床前模型需要更加贴近人体,并且完美复刻肿瘤的相关特性。肿瘤外植体可以保留相关细胞间相互作用和 TME,可以在培养过程中研究监测肿瘤细胞的行为和对外源刺激的反应[41,54]。

PDEs 不仅适用于药物反应预测,更可与基因组学、蛋白质组学等技术相结合,应用于癌症相关通路等的研究。雄激素受体(AR)信号轴和细胞代谢的改变是前列腺癌的标志。Gillis 等[27]敲低前列腺癌细胞株中的 AR 基因,并构建前列腺癌患者来源肿瘤 PDEs,通过研究外源物刺激后细胞内和 PDEs 内相关蛋白和基因表达的改变揭示了 AR 和 PPP 之间的新联系,如图 5 所示,为前列腺癌治疗提供了新的思路。Centenera 等[38]取用多个前列腺癌和乳腺癌患者来源的肿瘤组织构建了肿瘤 PDEs,利用 qPCR 和 IHC 评估给予雄激素拮抗剂后 PDEs 的凋亡情况和相关基因的变化,并利用全基因组分析评估肿瘤微环境对乳腺癌 ERα 信号转导的影响。结果显示,前列腺癌 PDEs 中,10/23 体现出增殖指数降低,6/23 增殖指数升高(26%)。在乳腺癌 PDEs 中,雌激素刺激使 6/14 组织中的孕激素受体(progesterone receptor,PGR)表达降低,5/14 表达增加。结果充分体现了肿瘤的异质性,证明了在评估实体瘤时使用反映肿瘤异质性模型的重要性。

PDEs 可以应用于肿瘤黏附、侵袭和转移相关行为和机制的研究。Spennati 等[55]首先构建肝脏和大脑 PDEs,然后用荧光素酶标记 MDA-MB-231 细胞并将其接种到制备好的肝脏和大脑 PDEs 上,利用原子力显微镜来评估细胞的机械特性和抑制相关通路后的生物力学特性变化。研究证明,对比肝 PDEs,细胞可以更快转移到脑 PDEs 中,抑制 Ras/MAPK/ERK 通路后,细胞转移能力降低。Decotret 等[56]将人类胶质母细胞瘤细胞球置于小鼠脑切片上并进行离体培养,以使肿瘤细胞侵入脑组织,使用共聚焦显



AR:雄激素受体,androgen receptor;SREBP1:固醇调节元件结合蛋白 1,sterol regulatory element-binding protein 1;6PGD:6-磷酸葡萄糖酸脱氢酶,6-phosphate glucose dehydrogenase;S3:6PGD 靶向抑制剂;ROS:活性氧,reactive oxygen;AMPK:AMP 活化蛋白激酶,AMP-activated protein kinase;ACC1:乙酰辅酶 A 羧化酶 1,acetyl-CoA carboxylase;mTOR1:哺乳动物雷帕霉素靶复合物 1,mammalian target of rapamycin 1;S6K:核糖体蛋白 S6 激酶,ribosomal protein S6 Kinase;S6:核糖体蛋白,ribosomal protein S6

图 5　AR 与磷酸戊糖途径间联系示意图

微镜对肿瘤细胞的迁移路径进行成像,结果显示,肿瘤细胞在体内外侵袭模式表现出明显的区别,凸显了 TME 对肿瘤细胞侵袭行为的影响。与传统的侵袭模型相比,PDEs 可以与单细胞追踪分析技术结合,更好地概括先天肿瘤微环境和周围组织环境的特征,可以更好地研究肿瘤的侵袭转移等行为。

5　总结与展望

与其他模型相比,PDEs 作为一种未经解构的离体模型,可以完美概括组织结构、微环境的同时保留人体免疫系统组分,从而可以在更贴近人体的环境中评估药物反应。多项研究也表明 PDEs 保留了个体患者的特异性遗传改变、转录组谱和组织病理学特征。PDEs 可以将不同的细胞类型和亚型置于患者特异性的、更接近体内的空间环境内,在保持细胞状态的同时重现细胞和相关因子在体内的相互作用,使其可以应用于抗肿瘤药物包括靶向药物、免疫药物等的反应性研究,药物相关作用机制研究,以及肿瘤生成、黏附、侵袭、转移机制的研究,是疾病研究和新药研发的强大离体模型。前不久,美国 FDA 关于新药临床前研究药效学、药动学、安全性评价去动物化的方案文件陆续落地,这个过程美国 FDA 用了 7 年的时间,从 2019 年对动物研究经费资助的减少,到 2022 年美国 FDA 接受了仅只采用器官芯片用于药效学研究的资料,到 2023 年美国 FDA 的现代化法案明确提出药效学研究的去动物化,到 2025 年美国 FDA 提出安全性研究,也要优先考虑体外微生理系统的安全性研究资料,表明美国 FDA 逐步去动物化的决心。技术因素和政策因素是推动新行业蓬勃发展的动力,虽然今天的微生理系统如类器官、外植体等还不算成熟,但其技术发展正处于快速的推陈出新阶段,将不断给新药研发带来更成熟、更准确的筛选和验证方案。

[参 考 文 献]

[1] VOABIL P, DE BRUIJN M, ROELOFSEN LM, *et al*. An *ex vivo* tumor fragment platform to dissect response to PD-1 blockade in cancer[J]. *Nat Med*, 2021, 27(7): 1250 – 1261.

[2] ADINE C, FERNANDO K, HO NCW, *et al*. Bioengineered hydrogels enhance *ex vivo* preservation of patient-derived tumor explants for drug evaluation[J]. *Biomaterials*, 2024, 305: 122460.

[3] CLARK J, FOTOPOULOU C, CUNNEA P, *et al*. Novel *Ex vivo* models of epithelial ovarian cancer: the future of biomarker and therapeutic research[J]. *Front Oncol*, 2022, 12: 837233.

[4] THOMMEN DS, KOELZER VH, HERZIG P, *et al*. A transcriptionally and functionally distinct PD-1$^+$ CD8$^+$ T cell pool with predictive potential in non-small-cell lung cancer treated with PD-1 blockade[J]. *Nat Med*, 2018, 24(7): 994 – 1004.

[5] SUCKERT T, RASSAMEGEVANON T, MÜLLER J, *et al*. Applying tissue slice culture in cancer research-insights from preclinical proton radiotherapy[J]. *Cancers (Basel)*, 2020, 12(6): 1589.

[6] LEIGHTON J. A sponge matrix method for tissue culture; formation of organized aggregates of cells *in vitro*[J]. *J Natl Cancer Inst*, 1951, 12(3): 545 – 561.

[7] LEIGHTON J. The growth patterns of some transplantable animal tumors in sponge matrix tissue culture[J]. *J Natl Cancer Inst*,

1954, 15(2): 275 – 293.
[8] LEIGHTON J, KLINE I, BELKIN M, *et al*. The similarity in histologic appearance of some human cancer and normal cell strains in sponge-matrix tissue culture[J]. *Cancer Res*, 1957, 17(5): 359 – 363.
[9] BROWNING TH, TRIER JS. Organ culture of mucosal biopsies of human small intestine[J]. *J Clin Invest*, 1969, 48(8): 1423 – 1432.
[10] FREEMAN AE, HOFFMAN RM. *In vivo*-like growth of human tumors *in vitro*[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1986, 83(8): 2694 – 2698.
[11] TEMPLETON AR, JEFFERY PL, THOMAS PB, *et al*. Patient-derived explants as a precision medicine patient-proximal testing platform informing cancer management[J]. *Front Oncol*, 2021, 11: 767697.
[12] PARRISH AR, GANDOLFI AJ, BRENDEL K. Precision-cut tissue slices: applications in pharmacology and toxicology[J]. *Life Sci*, 1995, 57(21): 1887 – 1901.
[13] HART A, MATTHEYSE FJ, BALINSKY JB. An organ culture of postnatal rat liver slices[J]. *In Vitro*, 1983, 19(11): 841 – 852.
[14] PEREZ LM, NONN L. Harnessing the utility of *Ex vivo* patient prostate tissue slice cultures[J]. *Front Oncol*, 2022, 12: 864723.
[15] KRUMDIECK CL, DOS SANTOS JE, HO KJ. A new instrument for the rapid preparation of tissue slices[J]. *Anal Biochem*, 1980, 104(1): 118 – 123.
[16] PLACKE ME, FISHER GL. Adult peripheral lung organ culture: a model for respiratory tract toxicology[J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 1987, 90(2): 284 – 298.
[17] FISHER RL, SMITH MS, HASAL SJ, *et al*. The use of human lung slices in toxicology[J]. *Hum Exp Toxicol*, 1994, 13(7): 466 – 471.
[18] HOLLIDAY DL, MOSS MA, POLLOCK S, *et al*. The practicalities of using tissue slices as preclinical organotypic breast cancer models[J]. *J Clin Pathol*, 2013, 66(3): 253 – 255.
[19] WU KZ, ADINE C, MITRIASHKIN A, *et al*. Making *in vitro* tumor models whole again[J]. *Adv Healthc Mater*, 2023, 12(14): e2202279.
[20] AISENBREY EA, MURPHY WL. Synthetic alternatives to matrigel[J]. *Nat Rev Mater*, 2020, 5(7): 539 – 551.
[21] NAIPAL KAT, VERKAIK NS, SÁNCHEZ H, *et al*. Tumor slice culture system to assess drug response of primary breast cancer[J]. *BMC Cancer*, 2016, 16: 78.
[22] NAGARAJ AS, BAO J, HEMMES A, *et al*. Establishment and analysis of tumor slice explants as a prerequisite for diagnostic testing[J]. *JoVE*, 2018(141): e58569.
[23] DAVIES EJ, DONG M, GUTEKUNST M, *et al*. Capturing complex tumour biology *in vitro*: histological and molecular characterisation of precision cut slices[J]. *Sci Rep*, 2015, 5: 17187.
[24] ABREU S, SILVA F, MENDES R, *et al*. Patient-derived ovarian cancer explants: preserved viability and histopathological features in long-term agitation-based cultures[J]. *Sci Rep*, 2020, 10(1): 19462.
[25] LEONG HS, CHAMBERS AF. Hypoxia promotes tumor cell motility via RhoA and ROCK1 signaling pathways[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2014, 111(3): 887 – 888.
[26] DONG M, BÖPPLE K, THIEL J, *et al*. Perfusion air culture of precision-cut tumor slices: an *ex vivo* system to evaluate individual drug response under controlled culture conditions[J]. *Cells*, 2023, 12(5): 807.
[27] GILLIS JL, HINNEH JA, RYAN NK, *et al*. A feedback loop between the androgen receptor and 6-phosphogluconate dehydrogenase (6PGD) drives prostate cancer growth[J]. *eLife*, 2021, 10: e62592.
[28] OLIVERA I, SANZ-PAMPLONA R, BOLAÑOS E, *et al*. A Therapeutically Actionable Protumoral Axis of Cytokines Involving IL-8, TNFα, and IL-1β[J]. *Cancer Discovery*, 2022, 12(9): 2140 – 2157.
[29] HE D, WANG D, LU P, *et al*. Single-cell RNA sequencing reveals heterogeneous tumor and immune cell populations in early-stage lung adenocarcinomas harboring EGFR mutations[J]. *Oncogene*, 2021, 40(2): 355 – 368.
[30] PENG HX, WU XR, LIU SP, *et al*. Multiplex immunofluorescence and single-cell transcriptomic profiling reveal the spatial cell interaction networks in the non-small cell lung cancer microenvironment[J]. *Clin Transl Med*, 2023, 13(1): e1155.
[31] DA MATA S, FRANCHI-MENDES T, ABREU S, *et al*. Patient-derived explants of colorectal cancer: histopathological and molecular analysis of long-term cultures[J]. *Cancers (Basel)*, 2021, 13(18): 4695.
[32] GARCIA-CHAGOLLAN M, CARRANZA-TORRES IE, CARRANZA-ROSALES P, *et al*. Expression of NK cell surface receptors in breast cancer tissue as predictors of resistance to antineoplastic treatment[J]. *Technol Cancer Res Treat*, 2018, 17: 1533033818764499.
[33] JEONG YM, BANG C, PARK M, *et al*. 3D-printed collagen scaffolds promote maintenance of cryopreserved patients-derived melanoma explants[J]. *Cells*, 2021, 10(3): 589.
[34] TSUKAMOTO Y, HIRASHITA Y, SHIBATA T, *et al*. Patient-derived *ex vivo* cultures and endpoint assays with surrogate biomarkers in functional testing for prediction of therapeutic response[J]. *Cancers (Basel)*, 2023, 15(16): 4104.
[35] BELLOMO G, RAINER C, QUARANTA V, *et al*. Chemotherapy-induced infiltration of neutrophils promotes pancreatic cancer metastasis via Gas6/AXL signalling axis[J]. *Gut*, 2022, 71(11): 2284 – 2299.
[36] SOOD A, DONG MQ, MELICHAR HJ. Preparation and applications of organotypic thymic slice cultures[J]. *JoVE*, 2016(114): 54355.
[37] CENTENERA MM, HICKEY TE, JINDAL S, *et al*. A patient-derived explant (PDE) model of hormone-dependent cancer[J]. *Mol Oncol*, 2018, 12(9): 1608 – 1622.
[38] GU L, LIAO ZY, HOANG DT, *et al*. Pharmacologic inhibition of Jak2-Stat5 signaling by Jak2 inhibitor AZD1480 potently suppresses growth of both primary and castrate-resistant prostate cancer[J]. *Clin Cancer Res*, 2013, 19(20): 5658 – 5674.
[39] BULIN AL, HASAN T. Spatiotemporal tracking of different cell populations in cancer organoid models for investigations on photodynamic therapy[J]. *Methods Mol Biol*, 2022, 2451: 81 – 90.
[40] GENSHAFT AS, ZIEGLER CGK, TZOUANAS CN, *et al*. Live cell tagging tracking and isolation for spatial transcriptomics using photoactivatable cell dyes[J]. *Nat Commun*, 2021, 12(1): 4995.
[41] COLLINS A, MILES GJ, WOOD J, *et al*. Patient-derived explants, xenografts and organoids: 3-dimensional patient-relevant pre-clinical models in endometrial cancer[J]. *Gynecol Oncol*, 2020, 156(1): 251 – 259.
[42] CHILOIRO S, DE MARINIS L. The immune microenviroment in somatotropinomas: from biology to personalized and target therapy[J]. *Rev Endocr Metab Disord*, 2023, 24(2): 283 – 295.
[43] DE VISSER KE, JOYCE JA. The evolving tumor microenvironment: From cancer initiation to metastatic outgrowth[J]. *Cancer Cell*, 2023, 41(3): 374 – 403.
[44] VAN RENTERGHEM AWJ, VAN DE HAAR J, VOEST EE. Functional precision oncology using patient-derived assays: bridging genotype and phenotype[J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2023, 20(5): 305 – 317.
[45] GRAHAM TA, SOTTORIVA A. Measuring cancer evolution from the genome[J]. *J Pathol*, 2017, 241(2): 183 – 191.
[46] HOES LR, VAN BERGE HENEGOUWEN JM, VAN DER WIJNGAART H, *et al*. Patients with rare cancers in the drug rediscovery protocol (DRUP) benefit from genomics-guided treatment[J]. *Clin Cancer Res*, 2022, 28(7): 1402 – 1411.
[47] GOLAN S, BAR V, SALPETER SJ, *et al*. A clinical evaluation of an *ex vivo* organ culture system to predict patient response to cancer therapy[J]. *Front Med (Lausanne)*, 2023, 10: 1221484.

[48] RICCIARDELLI C, LOKMAN NA, SABIT I, *et al*. Novel *ex vivo ovarian cancer tissue explant assay for prediction of chemosensitivity and response to novel therapeutics* [J]. *Cancer Lett*, 2018, 421: 51 - 58.
[49] HAN YY, LIU DD, LI LH. PD-1/PD-L1 pathway: current researches in cancer[J]. *Am J Cancer Res*, 2020, 10(3): 727 - 742.
[50] ZHANG H, DAI ZY, WU WT, *et al*. Regulatory mechanisms of immune checkpoints PD-L1 and CTLA-4 in cancer[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2021, 40(1): 184.
[51] LEE HH, WANG YN, XIA WY, *et al*. Removal of N-linked glycosylation enhances PD-L1 detection and predicts anti-PD-1/PD-L1 therapeutic efficacy[J]. *Cancer Cell*, 2019, 36(2): 168 - 178. e4.
[52] PERRY CJ, LAWRENCE AJ. Hurdles in basic science translation[J]. *Front Pharmacol*, 2017, 8: 478.
[53] NAKASONE ES, ASKAUTRUD HA, KEES T, *et al*. Imaging tumor-stroma interactions during chemotherapy reveals contributions of the microenvironment to resistance[J]. *Cancer Cell*, 2012, 21(4): 488 - 503.
[54] SAILER V, VON AMSBERG G, DUENSING S, *et al*. Experimental *in vitro*, *ex vivo* and *in vivo* models in prostate cancer research[J]. *Nat Rev Urol*, 2023, 20(3): 158 - 178.
[55] SPENNATI G, HOROWITZ LF, MCGARRY DJ, *et al*. Organotypic platform for studying cancer cell metastasis[J]. *Exp Cell Res*, 2021, 401(2): 112527.
[56] DECOTRET LR, SHI R, THOMAS KN, *et al*. Development and validation of an advanced *ex vivo* brain slice invasion assay to model glioblastoma cell invasion into the complex brain microenvironment[J]. *Front Oncol*, 2023, 13: 976945.

编辑:毕晓帆/接受日期:2025 - 08 - 13