类器官技术在药物评价中的应用进展

董文彬[1]，李　慧[2]，陈一飞[3*]

（1. 复旦大学药学院，上海 201203；2. 复旦大学附属中山医院，上海 200032；3. 上海药品审评核查中心，上海 201203）

摘要：近年来类器官和器官芯片技术发展迅速。类器官具有近生理性、人源性、遗传稳定性、高通量、易操作等优势，与器官芯片技术结合，可广泛应用于药物开发、药物评价、再生医疗等多个领域。类器官技术在药物评价中的应用包括药效动力学、药物代谢动力学、药物有效性和安全性等，其中在非临床药效学评价中的应用发展较快。文章介绍了类器官技术及其代表性模型在药物评价中的应用，综述了国际监管政策和行业发展现状，简介了应用案例，并对类器官和器官芯片技术用于非临床替代或补充模型的应用和挑战进行了讨论。

关键词：类器官；器官芯片；药物评价；非临床药效学评价；研究进展

中图分类号：Q813.1^{+}3；R95　　**文献标志码**：A　　**文章编号**：1001-8255(2024)05-0620-09

DOI：10.16522/j.cnki.cjph.2024.05.004

The Application Development of Organoids for Drug Evaluation

DONG Wenbin[1], LI Hui[2], CHEN Yifei[3*]

(*1. School of Pharmacy, Fudan University, Shanghai 201203; 2. Zhongshan Hospital, Fudan University, Shanghai 200032; 3. Shanghai Center for Drug Evaluation and Inspection, Shanghai 201203*)

ABSTRACT: In recent years, organoids and organ chips have been developed rapidly. Organoids show certain advantages such as physiological, human origin, genetic stability, high throughput and easy operation, and can be widely used in many fields including drug development, drug evaluation and regenerative medicine. The application of organoids to drug developing include the evaluation of pharmacodynamics, pharmacokinetics, effectiveness and safety, especially for non-clinical pharmacodynamic evaluation. Here, the applications of organoids and their representative models in drug evaluation are introduced, the regulatory international regulatory policy and industry developments are briefly reviewed. Finally, the applications and challenges of organoids and organ chips for non-clinical alternative or complementary models are discussed.

Key Words: organoid; organ chip; drug evaluation; non-clinical pharmacodynamic evaluation; research progress

在药物研发中，非临床评价可提供估算人体临床试验的安全起始剂量和剂量范围、确定潜在不良反应和临床监测指标[1]，是初步确定药物有效性和安全性的重要途径。动物模型是非临床评价的常用模型，但由于与人类的种属差异，有时难以准确反映或预测药物疗效和毒性[2]。同时，3R 原则（the rules of reduce, refine, replace）等动物伦理方面的考量也提高了对新的体外替代或补充模型的需求。

近年来，在细胞生物学、工程学、材料学等学科迅速发展和学科交融的背景下，类器官（organoids）成为极具潜力的动物试验补充模型。相较于二维细胞模型和动物模型，类器官与人体组织的生理相似性更强，且具有长期培养、来源广泛、成功率高、建模时间短等优势[3]。同时，类器官技术还可与器官芯片（organ chips）技术结合，构建类器官芯片

收稿日期：2024-01-02

作者简介：董文彬（1997—），女，硕士研究生，专业方向：新药研究与开发。

通信作者：陈一飞（1983—），女，副研究员，从事 GCP/GLP、药品监管科学的研究。

E-mail：chenyifei25@smda.sh.cn

(organoids-on-a-chip)，模拟组织和器官的体内微观结构和功能特征[4]，赋予类器官系统化特性，被广泛应用于药物开发、药物评价、再生医疗等多个领域。

类器官技术可应用于药效动力学、药物代谢动力学、药物有效性和安全性等药物评价领域，其中在非临床药效学评价中的应用发展较快。本文综述了类器官技术的发展现状，简介了代表性类器官模型，并结合应用实例讨论了类器官在药物评价中的应用前景与挑战。

1 类器官技术简介

类器官也叫微器官(mini-organs)，是体外培养的自组装三维细胞团，由干细胞分化而来，具有相应器官的细胞类型和相似空间结构，且能模拟器官的部分功能[5]。2009 年，研究者在基质胶中培养出富含亮氨酸重复序列的 G 蛋白偶联受体 5(leucine-rich repeat-containing G protein-coupled receptor 5，LGR5) 阳性小鼠的小肠类器官，是类器官技术的重大突破，推动了其他类型类器官的开发[6—7]。根据来源，类器官可分为多能干细胞 (pluripotent stem cells，PSCs) 源类器官、新生儿或成体干细胞 (adult stem cells，ASCs) 源类器官。其中，PSCs 源类器官包括胚胎干细胞 (embryonic stem cells，ESCs) 源类器官和诱导多能干细胞 (induced pluripotent stem cells，iPSCs) 源类器官。iPSCs 和 ASCs 源类器官的细胞来源还可由患者供给，称为患者源类器官 (patient-derived organoids，PDOs)[7]，这其中肿瘤类器官的应用较多。

类器官是继二维细胞模型、动物模型后备受关注的新一代非临床药物评价模型，其培养方式主要有包埋法、悬浮法、气液界面法等[8]。相较于二维细胞模型，类器官能更好地模拟生理条件下细胞间的相互作用，增殖能力更强，能维持基因组的相对稳定性，因此在药物筛选、药物敏感性预测、体外药效评价等方面获得的结果更接近于体内情况。相较于动物模型，类器官实验的可操作性更强、组织环境更简单，适用于活体成像技术，因此较适用于细胞 - 细胞相互作用和形态学研究。另外，在某些情况下，类器官技术构建的发育和疾病模型更为准确，更适用于发育缺陷、罕见病、感染性疾病等的建模[9]。

但同时，类器官也存在血管化、免疫化、系统化的程度较低等局限性。与器官芯片技术结合应用有助于减小此类局限性，从而提高评价药物疗效和毒性的准确度。此外，单细胞基因组学、基因编辑等技术的发展也扩大了类器官技术的可用范围，如用于模拟组织水平的代谢过程、细胞治疗产品开发等[9]。

2 国际相关监管政策与研究进展

近年来，由于类器官技术本身的优势，以及出于动物伦理和实验成本等方面的考量，国际各方对类器官技术广为关注。从发布文件来看，药品监管机构多以经济和政策支持为主，行业组织通过制定相关指南，共同促进类器官技术的进步和应用创新。

美国的类器官技术发展较为活跃，呈现布局时间早、参与机构多和政策持续跟进的特点。其中，美国国立卫生研究院 (National Institutes of Health，NIH) 的国家转化科学促进中心 (National Center for Advancing Translational Sciences，NCATS) 联合多家机构发起的“组织芯片计划 (Tissue Chip program)”已持续约 12 年，大幅推动了类器官技术在药物筛选、疾病建模、辅助临床试验等方面的应用[10]。相较于覆盖面广的“组织芯片计划”，FDA 的布局则侧重于药物非临床安全性评价，通过发布“预测毒理学路线图 (predictive toxicology roadmap)”、成立替代方法工作组 (alternative methods working group) 等方式推进类器官等新兴技术的应用[11—12]。与此同时，2022 年 9 月颁布的《FDA 现代化法案 2.0》(FDA Modernization Act 2.0) 中提出，允许使用可替代动物试验的方法开发药品和生物制品，以减少动物的使用。该法案将“临床前试验 (含动物试验)”替换为“非临床试验”，除了动物试验和细胞检测试验，还将器官芯片和微生理系统 (microphysio logical systems，MPs)、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[13]。美国环境保护局 (Environmental Protection Agency，EPA) 公布，到 2025 年，将削减哺乳动物试验相关项目

30%的经费；到2035年，任何由EPA要求或资助的哺乳动物试验均需逐案审批[14]。这间接加速了类器官技术的发展。欧洲、日本等也通过召开研讨会、更新指南、发起资助计划等方式布局该领域[15—19]。

在我国，类器官技术同样受到广泛重视。2021年，科技部将“基于类器官的恶性肿瘤疾病模型”列为“十四五”国家重点研发计划中首批启动重点专项任务[20]。国家药品监督管理局药品审评中心（Center for Drug Evaluation，CDE）发布的《基因治疗产品非临床研究与评价技术指导原则（试行）》《基因修饰细胞治疗产品非临床研究技术指导原则（试行）》中提到，在缺乏动物模型时，类器官可作为替代模型，为有效性和安全性评估提供补充信息，并要求科学论证其对临床试验设计的支持性[21—22]。同时，我国业界也在积极寻求类器官领域的共识。自2022年起，《类器官药物敏感性检测指导肿瘤精准治疗临床应用专家共识（2022年版）》《肿瘤类器官诊治平台的质量控制标准中国专家共识（2022年版）》《人肠癌类器官》《人肠道类器官》《人正常乳腺及乳腺癌类器官制备、冻存、复苏和鉴定操作指南》等专家共识和团体标准相继发布，在推动类器官技术发展和规范应用上发挥了重要作用[23—27]。

目前，类器官行业呈现发展速度快、覆盖领域广、应用范围较集中等特点。以“orgnoid”为主题词在Web of Science数据库检索研究性论文（Article）：截至2024年4月16日，已发布的研究性论文共达到10 432篇。从各年度已发布的研究性论文来看，2023年较2009年同比增长约18.3%（图1），研究领域涵盖细胞生物学、遗传学、肿瘤学、神经科学、发育生物学等；文章数量以美国最多（占比约37.2%），中国次之（占比约16.0%），其后依次为日本、德国、新西兰等。早期研发多获得国家级机构的资金支持，美国卫生与公众服务部（United States Department of Health and Human Services，HHS）和NIH资助的研究性论文占比较高，二者在所有资助机构中的占比均约为25.9%。

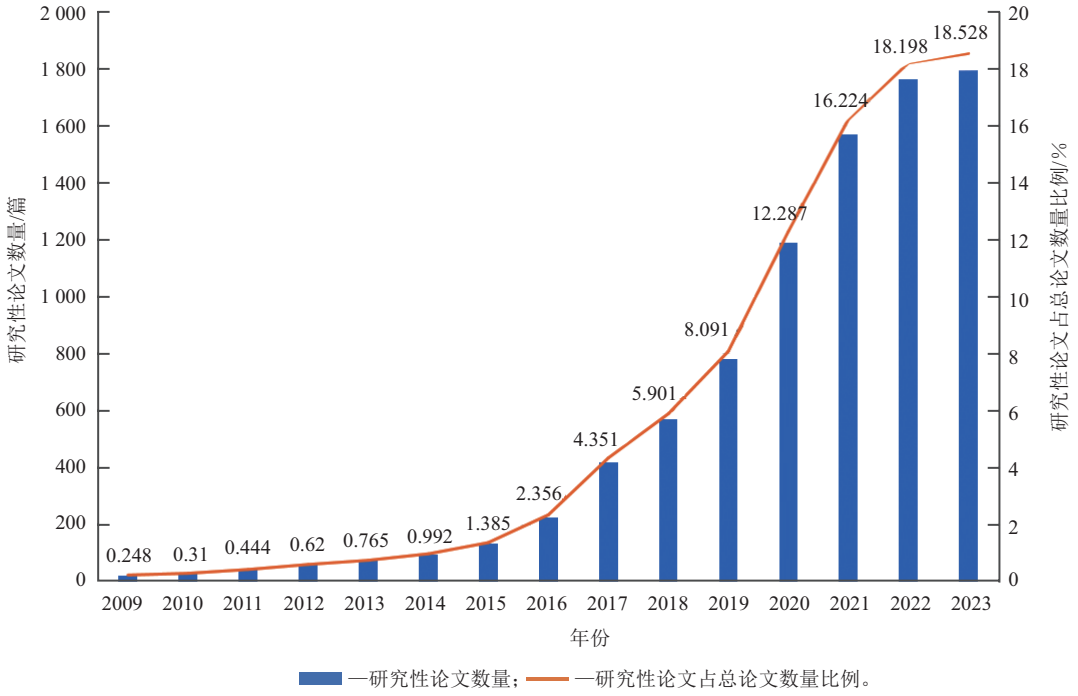


图1　2009—2023年类器官相关的研究性论文数量和研究性论文占总论文数量比例

（数据来源：https://webofscience.clarivate.cn）

Fig.1　Number and Proportion of Papers Related to Organoids from 2009 to 2023

(Data Sources: https://webofscience.clarivate.cn)

3 类器官的代表性模型及应用

在药物研发中，iPSCs 源类器官对遗传病机制研究和药物毒性评价更具优势；ASCs 源类器官，尤其是肿瘤患者 ASCs 源类器官，具有临床预测性优势，适用于药物靶点验证、药物敏感性预测[28]。ESCs 源类器官因伦理受限而应用较少，但已有报道显示其在药物靶点发现和筛选、再生医疗方面的应用潜力较高[29—31]。以下按照模型分类，介绍类器官和类器官芯片的应用进展。

3.1 肠道类器官（intestinal organoids，IOs）

IOs 来源于体外培养的 LGR5 阳性肠道干细胞，是首个成功建立的类器官，也是目前研究与应用较为广泛的类器官模型[32]。IOs 多用于构建炎症性肠病（inflammatory bowel disease，IBD）、囊性纤维化（cystic fibrosis，CF）等疾病模型[33—36]，用于药物发现、药物毒性评价、生物利用度和组织反应性研究等。通过显微注射、单层衍生类器官、游离细胞培养等方式与微生物共培养，IOs 可用于探究肠道细胞与微生物或病原体的相互作用机制[32,37—38]。另外，利用 CRISPR-Cas9 等基因编辑技术诱导突变，构建的 IOs 可用于探究基因缺失对感染性疾病发生、发展的影响[39—40]；反之，也可利用 IOs 验证 CRISPR-Cas9 对某些疾病的治疗潜力[41]。基于疾病模型，IOs 可结合单细胞测序用于药物靶点发现和筛选[42]，也可用于评价药物有效性和化疗药物毒性[43—44]，还可用于短肠综合征（short bowel syndrome，SBS）等再生医疗领域[45]。

3.2 脑类器官（brain organoids，BOs）

BOs 技术在药物非临床评价应用研究中发展较快[46]。大脑具有高度异质性和高度区域化的特点，其类器官的培养难度目前仍相对较大。现阶段，BOs 主要分为 2 种，非定向培养的全脑类器官和定向培养的区域特异性脑类器官[47—48]。非定向培养完全依赖于 PSCs 的内在分化能力，能使全脑类器官具有明显的神经上皮结构，并且脑细胞组成具有较强的多样性[49]。全脑类器官可模拟脑组织的发育和自发神经活动，构建寨卡病毒感染、孤独症谱系障碍（autism spectrum disorder，ASD）和脑损伤模型。发育中的大脑对有毒物质更敏感，因此全脑类器官还适用于药物毒性测试[50]。区域特异性脑类器官（如大脑皮层、中脑类器官）通过引入外源性诱导因子使 PSCs 定向分化，一致性更强，有利于阐明大脑特定区域的结构，可用于疾病建模，如构建蒂莫西综合征（Timothy syndrome）、帕金森病等模型，其中脉络膜丛 - 脑脊液类器官可模拟 BBB，用于筛选 BBB 通透性高的药物[51]。此外，通过神经元细胞迁移，可构建融合型 BOs，适用于探究大脑区域间的相互作用[52]。

3.3 心脏类器官（cardiac organoids，COs）

COs 通常由 PSCs 自组装而成，包含心肌细胞、心脏成纤维细胞和内皮细胞。COs 目前主要用于模拟胎儿心脏，例如结合基因编辑技术构建先天性心脏缺陷模型；在成人心脏疾病建模的应用中较为局限，并且由于心脏再生能力有限，人源 COs 的取材较为困难[53]。目前，心肌梗死、心律失常等一些疾病模型的类器官技术取得了较大进展。另外，利用 COs 可测试基因编辑技术对进行性假肥大性肌营养不良并发的心脏损伤的治疗作用[54]。COs 在药物安全性评价中的应用潜力较大，尤其是对需要长期使用的心血管疾病用药、抗肿瘤药，COs 可在药物心脏毒性的早期筛查中发挥重要作用。在药物筛选和毒性评价方面，已有报道利用 COs 筛选病毒感染引起的心功能障碍药物、再生医疗产品，以及评价结构性和非结构性毒素的心脏毒性等[54]。

3.4 肝脏类器官（liver organoids，LOs）

肝脏主要由肝细胞和胆管细胞组成，与间质细胞、内皮细胞和间充质细胞共同维持体内稳态。LOs 的材料来源较为广泛，既可由成人活检组织、ESCs 诱导形成，又可通过重编程将 PSCs 诱导为肝祖细胞，进而构建 LOs[55]。疾病建模方面，成人活检组织来源的 LOs 应用较多，如 Alagille 综合征、CF 等遗传病和肝癌模型。iPSCs 源的 LOs 保留了固有免疫应答，被用于病毒、疟原虫等感染性疾病的建模，如乙型肝炎病毒感染、非酒精性脂肪肝等模型[55]。此外，LOs 可用于筛选遗传性肝病以及 Wolman 病、肝脂肪变性等脂质紊乱疾病的治疗药物，也可用于

测试药物性肝损伤，如对乙酰氨基酚、曲格列酮、左氧氟沙星等多种药物所致的内在毒性和特异性毒性[56]。并且，LOs 在肝移植的研究中也具有较大的应用潜力。

3.5 肿瘤类器官（tumor organoids，TOs）

TOs 的商业化热度最高，通常为患者来源的肿瘤类器官（patient-derived organoids，PDOs）。TOs 较二维细胞系的构建成功率更高、异质性更强，还能更好地还原肿瘤的发生、发展过程。相较于患者源异种移植模型（patient-derived xenograft，PDX），PDOs 的构建速度更快、成本更低。目前，已能构建非转移性结直肠癌、激素敏感性乳腺癌等无法移植的 PDOs，更重要的是，PDOs 避免了移植带来的遗传漂变风险[57—58]。但同时，可能由于有丝分裂受限，PDOs 的生长速度较正常组织类器官慢，并且构建过程中还需考虑对肿瘤微环境的还原，因此，PDOs 对材料的纯度要求高，应在特定培养基（如基质胶、基底膜提取物）中培养[59]。

传统培养方法虽然能产生具有一种或多种类型细胞的 TOs，但在组织水平上的特征较为有限。利用天然支架（如细胞基质）或合成支架进行培养的工程化方式，可调节 TOs 的生物、物理和生化特征，提高对肿瘤组织的还原度；通过气液界面、凝胶表面、凝胶包埋、滚球培养等方式控制培养环境，可促进 TOs 生长；合成生物学方法还可在基因组水平上对细胞进行编程，提高 TOs 的还原度[57]。

TOs 被广泛应用于药物研发领域。例如：肿瘤生长、血管生成和耐药性评价；高通量药物筛选、药物敏感性预测、生物标志物分析。TOs 还可与基因组学相结合来捕捉耐药基因，或者与蛋白组学相结合来发现新生抗原，进而用于精准医疗和疫苗开发。此外，TOs 与免疫细胞或病原微生物（如幽门螺杆菌、基因毒性细菌）共培养，可用于探究免疫微环境特点、了解病原微生物与恶性肿瘤发生和发展的联系等[58]。

3.6 类器官芯片

器官芯片，又称作组织芯片（tissue chip）。部分观点认为其等同于微生理系统（microphysiological systems，MPSs）[60]，但美国 FDA 将其归为 MPSs 子类，是由小型化的生理环境组成的、用于产生和 / 或分析可模拟特定或目标器官水平反应的功能组织单位[61]。使用工程化的器官芯片技术培养类器官，可获得类器官芯片。不同来源类器官及类器官芯片的特点和应用示例如表 1 所示。

4　类器官芯片技术在药物非临床评价中的应用案例介绍

当前类器官技术的商业化应用主要集中在肿瘤治疗领域，包括药物筛选和个性化诊疗。但在药物开发中，类器官技术在药物非临床评价中的应用，特别是已成功应用的案例，受到的制药界关注度较高。

赛诺菲（Sanofi）开发了一种补体抑制剂 SAR445088，拟用于经典补体通路驱动疾病的治疗[66]。慢性炎症性脱髓鞘性多发性神经病（chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy，CIDP）是罕见的自身免疫性疾病。目前已知该病患者血清

表 1　类器官和类器官芯片技术的特点和应用示例[8,28,32,58,62—65]

Tab.1　Characteristics and Application Cases of Organoids and Organoids-on-a-chip[8,28,32,58,62—65]

分类	PSCs 源类器官		ASCs 源类器官		类器官芯片
	ESCs 源类器官	iPSCs 源类器官	非肿瘤类器官	肿瘤类器官	
特点	培养过程复杂、耗时较长，需重编程和诱导分化；可重现组织器官的早期发育过程，但组织器官成熟度较低；组成复杂，有间充质细胞、内皮细胞等		培养过程简单、耗时较短，无需重编程和诱导分化；来源于具有一定再生能力的组织器官，组织器官成熟度更高；组成简单，仅有上皮细胞	保留原发肿瘤的异质性；易长期培养；缺少免疫细胞，难以完全模拟肿瘤微环境	动态培养；系统性和血管化程度高；分析通量高；可模拟组织器官间相互作用
应用范围	肠、脑、心、肝、肾等组织的类器官模型		肠、肝、肺等组织的类器官模型	结直肠癌、胃肠道癌、脑胶质瘤、肝癌、前列腺癌、乳腺癌等模型	脑类器官芯片、肝类器官芯片、肠类器官芯片、肝 - 心芯片等

中的自身抗体可激活经典补体通路，但 CIDP 的病理机制尚未完全阐明，尚无成熟的动物模型[46]。

赛诺菲与类器官芯片技术公司 Hesperos 合作开发了评估补体抑制剂疗效的类器官芯片[46,67]。2020 年，由该类器官芯片产生的数据为一项评估 CIDP 治疗药物有效性、安全性和耐受性的临床试验（NCT04658472）提供了支持。虽然类器官芯片数据仅提供了非临床评价中的部分数据，但也是该技术在药物研发领域应用进展的重要事件，并得到了行业的广泛关注。

5 讨论

与传统非临床模型相比，类器官技术在疾病建模（如罕见病、感染性疾病）、药物筛选（如抗肿瘤药）等领域具有独特优势，并能结合器官芯片技术，在药物评价（如药物代谢动力学、毒理学）中表现出独特的应用价值[68—69]。然而，类器官技术目前尚无法完全替代传统动物试验。特别是对药物评价而言，数据可靠性是评价的基础，因此对评价模型的可靠性、标准化、规范化均有较高要求。

一方面，与动物模型相比，虽然可通过器官芯片技术提高类器官模型的系统化程度，但提高程度仍然有限。例如，类器官血管化技术主要依赖于移植，周围神经系统仍难以在类器官中呈现等[9]。相对低的系统化程度会弱化类器官的近生理性，使其无法完全模拟体内环境，对复杂系统性疾病（如代谢性疾病）研究和药物评价（如全身毒性）等造成一定挑战。另一方面，类器官模型构建的成功率受多种固有因素（如细胞来源）和外源性因素（如培养条件）的影响，而繁杂的影响因素和标准的缺失都会影响类器官模型相关结果的重现性和可比性。因此，类器官技术的持续发展不仅需要技术突破，还需要通过标准化手段来控制类器官构建过程中的不确定因素，通过规范性要求来提高类器官技术提供数据的可靠性。

类器官技术的发展与应用需要学术界、产业界和监管方的共同关注。尤其在药物评价应用中，应参考已有规范和标准，根据具体情况审慎评估类器官技术方案的可靠性和成熟度，以及其与具体品种、评价内容的适配度。科学、合理的评价标准是提高类器官应用稳定性和可靠性的关键，也是确保药物有效性和安全性的基础。标准的制定、模型可靠性和评价方法的不断改善，将有助于推动该技术在药物评价中的应用与发展。

参考文献：

[1] ICH．ICH M3(R2)：Guidance on nonclinical safety studies for the conduct of human clinical trials and marketing authorization for pharmaceuticals［EB/OL］．(2009-06-11)［2024-04-16］．https://database．ich．org/sites/default/files/M3_R2__Guideline．pdf.

[2] YOUHANNA S, KEMAS A M, PREISS L, *et al*．Organotypic and microphysiological human tissue models for drug discovery and development-current state-of-the-art and future perspectives［J］．*Pharmacol Rev*, 2022, **74**(1)：141-206.

[3] 莫少波，管若羽，张　龙，等．类器官在临床医学中的应用和研究进展［J］．中国科学：生命科学，2023, **53**(2)：221-237.

[4] 张文庆，王璇璇，黄安琪，等．器官芯片技术在药物毒理学领域的研究现状及应用前景［J］．世界临床药物，2023, **44**(1)：83-89.

[5] 陈晔光，赵联正．中国类器官研究的发展［J］．中国科学：生命科学，2023, **53**(2)：137-139.

[6] SATO T, VRIES R G, SNIPPERT H J, *et al*．Single Lgr5 stem cells build crypt-villus structures *in vitro* without a mesenchymal niche［J］．*Nature*, 2009, **459**(7244)：262-265.

[7] CORRÒ C, NOVELLASDEMUNT L, LI V S W．A brief history of organoids［J］．*Am J Physiol Cell Physiol*, 2020, **319**(1)：C151-C165.

[8] 王亚清，陶婷婷，秦建华．类器官芯片［J］．中国科学：生命科学，2023, **53**(2)：211-220.

[9] LI M, IZPISUA BELMONTE J C．Organoids－preclinical models of human disease［J］．*N Engl J Med*, 2019, **380**(6)：569-579.

[10] National Center for Advancing Translation Sciences．Tissue chip initiatives & projects［EB/OL］．(2023-04-28)［2024-04-16］．https://ncats．nih．gov/tissuechip/projects.

[11] FDA．FDA's predictive toxicology roadmap［EB/OL］．(2020-09-25)［2024-04-16］．https://www．fda．gov/science-research/about-science-research-fda/fdas-predictive-toxicology-roadmap.

[12] FDA. Advancing alternative methods at FDA [EB/OL]. (2022-01-05) [2024-04-16]. https://www.fda.gov/science-research/about-science-research-fda/advancing-alternative-methods-fda.

[13] ADASHI E Y, O'MAHONY D P, COHEN I G. The FDA Modernization Act 2.0: drug testing in animals is rendered optional [J/OL]. *Am J Med*, 2023, **136**(9): 853-854.

[14] EPA. Directive to prioritize efforts to reduce animal testing [EB/OL]. (2019-09-10) [2024-04-16]. https://www.epa.gov/sites/default/files/2019-09/documents/image2019-09-09-231249.pdf.

[15] EMA. First EMA workshop on non-animal approaches in support of medicinal product development: challenges and opportunities for use of micro-physiological systems [EB/OL]. (2017-05-10) [2024-04-16]. https://www.ema.europa.eu/en/documents/report/report-first-ema-workshop-non-animal-approaches-support-medicinal-product-development-challenges_en.pdf.

[16] PAMIES D, LEIST M, COECKE S, *et al*. Guidance document on Good Cell and Tissue Culture Practice 2.0 (GCCP 2.0) [J]. *ALTEX*, 2022, **39**: 30-70.

[17] HCA. New EU-funded Research Project "HCA|Organoid": toward a single-cell atlas of human organoids for biomedical research [EB/OL]. (2020-08-31) [2024-04-16]. https://www.hca-organoid.eu/news/kickstarting-organoid-cell-atlas.

[18] European Commission. Horizon Europe Health double stage calls 2024 - Unlocking the full potential of new tools, technologies and digital solutions for a healthy society (Destination 5) [EB/OL]. (2023-03-30) [2024-04-16]. https://hadea.ec.europa.eu/calls-proposals/horizon-europe-health-double-stage-calls-2024-unlocking-full-potential-new-tools-technologies-and_en.

[19] MARX U, AKABANE T, ANDERSSON T B, *et al*. Biologyinspired microphysiological systems to advance patient benefit and animal welfare in drug development [J]. *ALTEX*, 2020, **37**(3): 365-394.

[20] 国家科学技术部. 科技部关于发布国家重点研发计划"数学和应用研究"等"十四五"重点专项2021年度项目申报指南的通知 [EB/OL]. (2021-05-10) [2024-04-16]. https://service.most.gov.cn/kjjh_tztg_all/20210510/4272.html.

[21] 国家药品监督管理局药品审评中心. 基因治疗产品非临床研究与评价技术指导原则(试行) [EB/OL]. (2021-12-03) [2024-04-16]. https://www.cde.org.cn/zdyz/domesticinfopage?zdyzIdCODE=3c3eef7964f7950ca9a18b9ce095088c.

[22] 国家药品监督管理局药品审评中心. 基因修饰细胞治疗产品非临床研究技术指导原则(试行) [EB/OL]. (2021-12-03) [2024-04-16]. https://www.cde.org.cn/zdyz/domesticinfopage?zdyzIdCODE=b7dfbba537d5ecc30659d715f5045acb.

[23] 类器官药物敏感性检测指导肿瘤精准治疗临床应用专家共识(2022年版)编写专家组, 王树滨, 高　静, 等. 类器官药物敏感性检测指导肿瘤精准治疗临床应用专家共识(2022年版) [J]. 中国癌症防治杂志, 2022, **14**(3): 234-239.

[24] 中国抗癌协会肿瘤多学科诊疗专业委员会, 中国抗癌协会肿瘤内分泌专业委员会, 邹冬玲, 等. 肿瘤类器官诊治平台的质量控制标准中国专家共识(2022年版) [J]. 中国癌症杂志, 2022, **32**(7): 657-668.

[25] 中国细胞生物学学会. 人肠癌类器官 [EB/OL]. (2022-09-23) [2024-04-16]. http://www.ttbz.org.cn/StandardManage/Detail/67886/.

[26] 中国细胞生物学学会. 人肠道类器官 [EB/OL]. (2022-09-23) [2024-04-16]. http://www.ttbz.org.cn/StandardManage/Detail/67884/.

[27] 中国医药生物技术协会. 人正常乳腺及乳腺癌类器官制备、冻存、复苏和鉴定操作指南 [EB/OL]. (2023-02-22) [2024-04-16]. http://www.ttbz.org.cn/StandardManage/Detail/77610/.

[28] XU R, ZHOU X, WANG S, *et al*. Tumor organoid models in precision medicine and investigating cancer-stromal interactions [J]. *Pharmacol Ther*, 2021, **218**: 107668.

[29] LIU H, ZHANG Y, ZHANG Y Y, *et al*. Human embryonic stem cell-derived organoid retinoblastoma reveals a cancerous origin [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2020, **117**(52): 33628-33638.

[30] CANDIELLO J, GRANDHI T S P, GOH S K, *et al*. 3D heterogeneous islet organoid generation from human embryonic stem cells using a novel engineered hydrogel platform [J]. *Biomaterials*, 2018, **177**: 27-39.

[31] VARZIDEH F, PAHLAVAN S, ANSARI H, *et al*. Human cardiomyocytes undergo enhanced maturation in embryonic stem cell-derived organoid transplants [J]. *Biomaterials*, 2019, **192**: 537-550.

[32] RAHMANI S, BREYNER N M, SU H M, *et al*. Intestinal organoids: a new paradigm for engineering intestinal

epithelium *in vitro* [J]. *Biomaterials*, 2019, **194**: 195-214.

[33] BAYRER J R, WANG H, NATTIV R, *et al*. LRH-1 mitigates intestinal inflammatory disease by maintaining epithelial homeostasis and cell survival [J]. *Nat Commun*, 2018, **9**(1): 4055.

[34] MARTÍNEZ-SÁNCHEZ L D C, NGO P A, PRADHAN R, *et al*. Epithelial RAC1-dependent cytoskeleton dynamics controls cell mechanics, cell shedding and barrier integrity in intestinal inflammation [J]. *Gut*, 2023, **72**(2): 275-294.

[35] ZUO L, KUO WT, CAO F, *et al*. Tacrolimus-binding protein FKBP8 directs myosin light chain kinase-dependent barrier regulation and is a potential therapeutic target in Crohn's disease [J]. *Gut*, 2023, **72**(5): 870-881.

[36] MITHAL A, CAPILLA A, HEINZE D, *et al*. Generation of mesenchyme free intestinal organoids from human induced pluripotent stem cells [J]. *Nat Commun*, 2020, **11**(1): 215.

[37] LEE H, JUNG K B, KWON O, *et al*. *Limosilactobacillus reuteri* DS0384 promotes intestinal epithelial maturation via the postbiotic effect in human intestinal organoids and infant mice [J]. *Gut Microbes*, 2022, **14**(1): 2121580.

[38] LULLA V, DINAN A M, HOSMILLO M, *et al*. An upstream protein-coding region in enteroviruses modulates virus infection in gut epithelial cells [J]. *Nat Microbiol*, 2019, **4**(2): 280-292.

[39] LIN S C, HAGA K, ZENG X L, *et al*. Generation of CRISPR-Cas9-mediated genetic knockout human intestinal tissue-derived enteroid lines by lentivirus transduction and single-cell cloning [J]. *Nat Protoc*, 2022, **17**(4): 1004-1027.

[40] DROST J, VAN BOXTEL R, BLOKZIJL F, *et al*. Use of CRISPR-modified human stem cell organoids to study the origin of mutational signatures in cancer [J]. *Science*, 2017, **358**(6360): 234-238.

[41] MATANO M, DATE S, SHIMOKAWA M, *et al*. Modeling colorectal cancer using CRISPR-Cas9-mediated engineering of human intestinal organoids [J]. *Nat Med*, 2015, **21**(3): 256-262.

[42] MEAD B E, HATTORI K, LEVY L, *et al*. Screening for modulators of the cellular composition of gut epithelia via organoid models of intestinal stem cell differentiation [J]. *Nat Biomed Eng*, 2022, **6**(4): 476-494.

[43] CRUZ-ACUÑA R, QUIRÓS M, FARKAS A E, *et al*. Synthetic hydrogels for human intestinal organoid generation and colonic wound repair [J]. *Nat Cell Biol*, 2017, **19**(11): 1326-1335.

[44] JARDI F, KELLY C, TEAGUE C, *et al*. Mouse organoids as an *in vitro* tool to study the *in vivo* intestinal response to cytotoxicants [J]. *Arch Toxicol*, 2023, **97**(1): 235-254.

[45] SUGIMOTO S, KOBAYASHI E, FUJII M, *et al*. An organoid-based organ-repurposing approach to treat short bowel syndrome [J]. *Nature*, 2021, **592**(7852): 99-104.

[46] RUMSEY J W, LORANCE C, JACKSON M, *et al*. Classical complement pathway inhibition in a "human-on-a-chip" model of autoimmune demyelinating neuropathies [J]. *Adv Ther* (Weinh), 2022, **5**(6): 2200030.

[47] SEO Y, BANG S, SON J, *et al*. Brain physiome: a concept bridging *in vitro* 3D brain models and *in silico* models for predicting drug toxicity in the brain [J]. *Bioact Mater*, 2021, **13**: 135-148.

[48] TAN H Y, CHO H, LEE L P. Human mini-brain models [J]. *Nat Biomed Eng*, 2021, **5**(1): 11-25.

[49] QIAN X, SONG H, MING G L. Brain organoids: advances, applications and challenges [J]. *Development*, 2019, **146**(8): dev166074.

[50] MA C, SEONG H, LI X, *et al*. Human brain organoid: a versatile tool for modeling neurodegeneration diseases and for drug screening [J]. *Stem Cells Int*, 2022, **2022**: 2150680.

[51] LESAVAGE B L, SUHAR R A, BROGUIERE N, *et al*. Next-generation cancer organoids [J]. *Nat Mater*, 2022, **21**(2): 143-159.

[52] XIANG Y, TANAKA Y, PATTERSON B, *et al*. Fusion of regionally specified hpsc-derived organoids models human brain development and interneuron migration [J]. *Cell Stem Cell*, 2017, **21**(3): 383-398.

[53] KIM H, KAMM R D, VUNJAK-NOVAKOVIC G, *et al*. Progress in multicellular human cardiac organoids for clinical applications [J]. *Cell Stem Cell*, 2022, **29**(4): 503-514.

[54] XUAN W, TIPPARAJU S M, ASHRAF M. Transformational applications of human cardiac organoids in cardiovascular diseases [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2022, **10**: 936084.

[55] PRIOR N, INACIO P, HUCH M. Liver organoids: from basic research to therapeutic applications [J]. *Gut*, 2019, **68**(12): 2228-2237.

[56] BROOKS A, LIANG X, ZHANG Y, *et al*. Liver organoid as a 3D *in vitro* model for drug validation and toxicity assessment [J]. *Pharmacol Res*, 2021, **169**: 105608.

[57] LUO Z, ZHOU X, MANDAL K, *et al*. Reconstructing the tumor architecture into organoids [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2021, **176**: 113839.

[58] VENINGA V, VOEST E E. Tumor organoids: opportunities and challenges to guide precision medicine [J]. *Cancer Cell*, 2021, **39**(9): 1190-1201.

[59] QU J, KALYANI F S, LIU L, *et al*. Tumor organoids: synergistic applications, current challenges, and future prospects in cancer therapy [J]. *Cancer Commun* (Lond), 2021, **41**(12): 1331-1353.

[60] LOW L A, MUMMERY C, BERRIDGE B R, *et al*. Organs-on-chips: into the next decade [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2021, **20**(5): 345-361.

[61] FDA. Advancing alternative methods at FDA [EB/OL]. (2022-01-05) [2024-04-16]. https://www. fda. gov/science-research/about-science-research-fda/advancing-alternative-methods-fda.

[62] TANG X Y, WU S, WANG D, *et al*. Human organoids in basic research and clinical applications [J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2022, **7**(1): 168.

[63] MUN S J, RYU J S, LEE M O, *et al*. Generation of expandable human pluripotent stem cell-derived hepatocyte-like liver organoids [J]. *J Hepatol*, 2019, **71**(5): 970-985.

[64] LOW J H, LI P, CHEW E G Y, *et al*. Generation of human PSC-derived kidney organoids with patterned nephron segments and a de novo vascular network [J]. *Cell Stem Cell*, 2019, **25**(3): 373-387.

[65] FERRARI E, RASPONI M. Liver-Heart on chip models for drug safety [J]. *APL Bioeng*, 2021, **5**(3): 031505.

[66] SIMMONS K T, CHAN J, HUSSAIN S, *et al*. Anti-C1s humanized monoclonal antibody SAR445088: a classical pathway complement inhibitor specific for the active form of C1s [J]. *Clin Immunol*, 2023, **251**: 109629.

[67] HESPEROS. Hesperos shows potential for *in vitro* approach to replace conventional animal efficacy studies for rare neuromuscular disorders [EB/OL]. (2022-04-19) [2024-04-16]. https://hesperosinc. com/efficacy-study-for-rare-neuromuscular-disorders/.

[68] ISOHERRANEN N, MADABUSHI R, HUANG S M. Emerging role of organ-on-a-chip technologies in quantitative clinical pharmacology evaluation [J]. *Clin Transl Sci*, 2019, **12**(2): 113-121.

[69] WANG H, BROWN P C, CHOW E C Y, *et al*. 3D cell culture models: drug pharmacokinetics, safety assessment, and regulatory consideration [J]. *Clin Transl Sci*, 2021, **14**(5): 1659-1680.