

人源类器官的研究进展及在口腔医学的展望

谭汝铿 曾润玲 王卓然 徐萌

中山大学光华口腔医学院·附属口腔医院,广东省口腔医学重点实验室,广州 510055

通信作者:徐萌,Email:xumeng23@mail.sysu.edu.cn



徐萌

【摘要】 类器官是指在体外三维培养构建的,依赖于人造细胞外基质的多细胞团,具有自我更新、自我组织能力,并维持了其来源组织的生理结构和功能。类器官作为一种新兴的研究模型,兼具细胞系和动物模型两者的优点。其构建材料简单、培养效率高、耗时短,在疾病研究模型构建、临床药敏试验和再生医学中有良好的应用前景。类器官

模型主要分为三种细胞来源类型:胚胎干细胞/诱导多能干细胞、成体干细胞、肿瘤细胞。本文将重点介绍三种细胞来源类器官最新的研究进展,并展望其在口腔医学中的应用。

【关键词】 类器官; 胚胎干细胞; 诱导多能干细胞; 成体干细胞; 肿瘤

基金项目:国家自然科学基金(81602384);2018年度教学改革与教学质量工程-本科实习教学基地建设项目——中山大学口腔医学专业本科实习教学基地(52000-31911004);中山大学2017年本科教学改革与教学质量工程项目(自制牙磨片切割机在口腔组织病理学开放性实验《牙齿磨片制作》的应用);国家级大学生创新创业训练计划(201810558159)

DOI:10.3877/cma.j.issn.1674-1366.2019.02.001

The research progress of human organoids and the prospects of application in stomatology

Tan Rukeng, Zeng Runling, Wang Zhuoran, Xu Meng
Guanghua School of Stomatology, Hospital of Stomatology,
Guangdong Key Laboratory of Stomatology, Sun Yat-sen
University, Guangzhou 510055, China

Corresponding author: Xu Meng, Email: xumeng23@mail.sysu.edu.cn

【Abstract】 The organoid is a multicellular mass with the ability of self-renewal and self-organization in artificial extracellular matrix, which is constructed by three-dimensional culture *in vitro*, and it maintains the physiological structure and function of its source tissues. As a new research model, the organoid has the advantages of both cell lines and animal models. The easily material construction, high culturing efficiency and short time-consuming make it good application

prospects in disease research model construction, clinical drug sensitivity test and regenerative medicine application. The organoid models can be divided into three types of cell sources: embryonic stem cells/induced pluripotent stem cells, adult stem cells and cancer cells. In this review, organoid from three cell sources will be elaborated separately, and mainly focused on the current status of human organoid research progress and the prospect of application in stomatology.

【Key words】 Organoid; Embryonic stem cells; Induced pluripotent stem cells; Adult stem cells; Neoplasms

Fund program: Project supported by The National Natural Science Funds(81602384); 2018 Teaching reform and teaching quality plan - undergraduate practice teaching base construction project—Stomatological undergraduate practice teaching base of Sun Yat-sen University(52000-31911004); 2017 Teaching reform and teaching quality plan of Sun Yat-sen University(The application of self-made cutting machine to make ground tooth section in oral pathology lab); National Undergraduate Students Innovation Training Program(201810558159)

DOI:10.3877/cma.j.issn.1674-1366.2019.02.001

类器官是指在体外三维培养构建的,依赖于人造细胞外基质的多细胞团,具有自我更新、自我组织能力,并维持了其来源组织的生理结构和功能。长期以来,2D细胞系是医学科研工作中必不可少的一部分,因其培养条件简单、能在体外无限增殖的特点而备受青睐。但是2D细胞系更多的是在单个细胞水平上的研究,因为细胞成分单一,不能很好地模拟人体的多种细胞交互的微环境。实验动物模型是在组织器官水平上的研究,但由于费用高昂、时间成本高,大规模试验难以开展。另外因为动物和人存在物种间差异,动物实验的结果不能完全反映人体的实际情况。

2009年,Hans Clever实验室Sato等^[1]通过分离小鼠离体肠段的隐窝组织中的单个Lgr5⁺的肠干细胞,在含有表皮细胞生长因子(epidermal growth factor,

EGF)、R-spondin-1、Noggin的基质胶(Matrigel)的培养基中得到了含有隐窝-绒毛样结构域的空腔样3D细胞团。随后,通过系谱追踪依然能在3D细胞团中发现单个标记的Lgr5⁺干细胞^[2],证明该模型能够很好地模拟肠道器官的结构和功能。自此,类器官构建体系迅速成为研究热点,多种不同的类器官构建体系逐步建立,对类器官应用的研究也随之开展。

一、类器官构建的现状

目前多种类器官模型已经构建成功,而类器官模型主要来源为干细胞,包括具有多能性(pluripotency)的胚胎干细胞(embryonic stem cell, ESC)、诱导性多能干细胞(induced pluripotent stem cells, iPSC)和有多种分化潜能(multipotency)的成体干细胞以及肿瘤细胞。以下介绍这几种细胞来源的类器官构建现状以及所需材料与方法。

1. 胚胎干细胞和诱导性多能干细胞来源的类器官:ESC是囊胚内细胞群分离出来在体外培养的一类细胞,具有无限增殖能力和多能性^[3]。iPSC最早由山中伸弥团队成功培育,该团队将Oct4、Sox2、c-Myc、Klf4四种转录因子基因通过慢病毒载体转入小鼠胚胎成纤维细胞和尾尖成纤维细胞,使其去分化转为类似胚胎干细胞的多能干细胞^[4]。这两种干细胞都具有多能性,是干细胞研究的一个重要材料,同时也是类器官构建的重要的来源细胞。目前,已经成功构建了的类器官模型包括肠^[5]、胃^[6]、肝脏^[7]、脑^[8]、肾^[9]、肺^[10]、乳腺^[11]等(图1)。

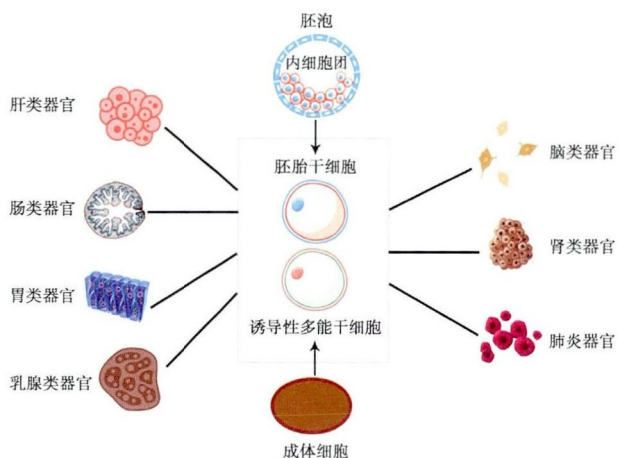


图1 胚胎干细胞、诱导性多能干细胞来源的类器官培养过程

Morizane等^[9]将人ESC细胞系(H9)和人iPSC细胞系(HDF- α)进行培养得到了具有肾单位结构类器官,并利用类器官模型研究肾的发育和庆大霉素、顺铂对肾的损伤和毒性,为体外构建患者特异性肾

模型进行药物肾毒性的测定奠定了基础。而McCracken等^[6]利用人ESC细胞系(H1和H9)构建得到人胃类器官,并用幽门螺旋杆菌感染胃类器官模型,观察其病理生理反应,成功重现了胃被幽门螺旋杆菌感染的典型特征,这让胃类器官成为幽门螺旋杆菌介导的人类胃病疾病研究的一个新模型。Li等^[8]利用异常纺锤体样小头畸形(abnormal spindle-like microcephaly disease, ASPM)患者来源的iPSC构建的脑类器官模型模拟大脑皮质的早期发育,并建立了ASPM相关的小头畸形疾病研究模型。

长期以来幽门螺旋杆菌感染和ASPM突变导致的小头畸形这些微生物感染和遗传性疾病一直没有很好的研究模型,而类器官模型的出现,为体外模拟器官发育、微生物感染和遗传疾病发生、发展的研究提供了很有潜力的研究模型。

2. 成体干细胞来源的类器官:成体干细胞是在已经分化的器官组织里未分化的细胞,具有自我更新能力,能够分化为来源器官所有的细胞类型,可以通过分裂来补充死亡的细胞或者修补受损组织。经过Sato等^[1]的肠类器官培养体系的启发,现在多个成体干细胞来源的类器官模型已经被成功构建,包括肠^[12]、胃^[13]、肝^[14]、前列腺^[15]、胰腺^[16-17]、肺^[18]、乳腺^[19]、唾液腺^[20-21]、舌^[22]、食道^[23]、甲状腺^[24]等(图2)。

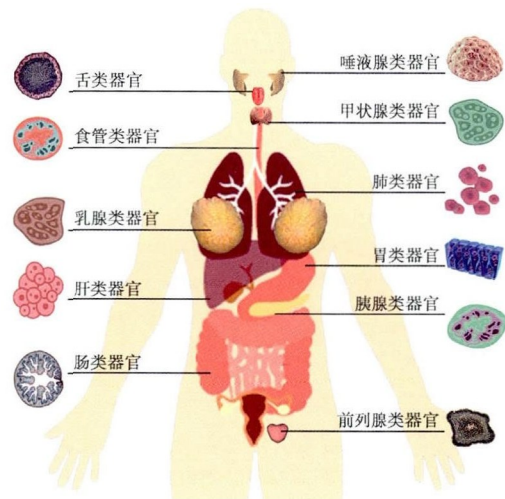


图2 已成功构建的成体干细胞来源的类器官

几个成体干细胞有潜力再生出整个来源的器官,这是干细胞研究的一个热点。而Sato等^[1]的肠类器官培养体系使成体干细胞在体外能够继续维持其自我更新和分化能力,为再生医学和干细胞研究突破了一个技术的瓶颈。但目前类器官到真器官的差距还是不小,每个器官都有其构建的难点所

在。比如舌,现在单层的舌上皮类器官^[22]已经成功构建,但是如何构建具有三层不同走向肌纤维的舌头,并有相应的神经来控制肌肉的收缩的舒张,这是一个很有挑战性的研究。Loomans等^[17]成功通过人的胰腺成体干细胞构建的类器官能够产生胰岛素分泌细胞,只是目前使用的Matrigel尚不支持人体移植,相信当Matrigel有所突破的时候,会为糖尿病患者带来一劳永逸的疗法。

Srinivasan等^[21]通过分离唾液腺组织里的唾液腺成体干细胞,在3D水凝胶中培养得到唾液腺类器官。他们对水凝胶进行基底膜肽修饰,发现干细胞的增殖和活性得到明显加强,用异丙肾上腺素和卡巴胆碱对类器官进行刺激后,能够促进干细胞向唾液腺细胞分化,并且他们的类器官在水凝胶中最久能维持118 d。

3. 肿瘤细胞来源类器官:正常细胞在原癌基因和抑癌基因突变累积下,导致细胞周期调节的失控,并且丧失了接触抑制的限制,能够持续分裂与无限增殖,形成肿瘤细胞。肿瘤细胞的旺盛生命力让其在体外培养相对正常的组织细胞要更加容易。肿瘤细胞来源的类器官的种类现在已经有肠癌^[25]、胃癌^[26]、肝癌^[27]、前列腺^[28]、胰腺癌^[29]、乳腺癌^[30-31]、头颈部鳞癌^[32]。

Shah等^[32]利用人咽鳞癌细胞FaDu细胞培养得到人咽鳞癌类器官。随后他们用西妥珠单抗和顺铂对人咽鳞癌类器官进行药敏试验,结果显示鳞癌类器官在联合用药比单独用药时活性更低。这证明了肿瘤类器官模型进行高通量抗癌药物筛选试验的可行性,可用于测试新的肿瘤治疗方案。

Seidlitz等^[26]对四种患者来源的胃癌类器官和正常胃类器官进行基因组和转录组的分析,发现了胃癌类器官参与DNA错配修复的关键基因MLH1、MSH6沉默。随后使用常规化疗药物包括5-FU、奥沙利铂、伊立替康、表柔比星和多西紫杉醇等对胃癌类器官进行测试,细胞活力实验结果显示不同的类器官对不同的药物组合产生不同的反应,这让肿瘤患者的体外个性化筛药实现精准医学成为了可能。

4. 人源类器官构建材料与方法:构建类器官所需材料因目标器官的差异而不同,以下以胚胎干细胞和诱导多能干细胞来源的类器官构建材料作为代表进行阐述。

由表1可见,类器官的构建材料主要分为两大部分,一是人造的细胞外基质,其模拟细胞外环境并为类器官的生长提供一个三维的支架。目前最常用的基质胶是一种小鼠细胞外基质的提取物,但也有使用人工合成的水凝胶或者是胶原胶。二是

表1 胚胎干细胞、诱导多能干细胞来源的类器官构建材料

组织类型	组织来源	胚层分化培养基	器官分化培养基	类器官生长培养基
肠 ^[5]	人源胚胎干细胞和诱导性多能干细胞	含有 Activin A 的 RPMI 1640 培养基	含有成纤维细胞生长因子 4、CHIR99021 的 RPMI 1640 培养基	含有表皮细胞生长因子、头蛋白、R-spondin1 的高级 DMEM/F12 培养基、Matrigel
胃 ^[6]	人源胚胎干细胞和诱导性多能干细胞系	含有 Activin A、BMP4 的 RPMI 1640 培养基	WNT3A、CHIR99021、成纤维细胞生长因子 4、头蛋白、维甲酸的 RPMI 1640 培养基	含有表皮细胞生长因子、头蛋白、维甲酸的高级 DMEM/F12 培养基、Matrigel
肝脏 ^[7]	人源胚胎干细胞和诱导性多能干细胞系	含有 Activin A、BMP4、CHIR 99021、成纤维细胞生长因子 2、LY294002 的 DMEM/F12 培养基	含有成纤维细胞生长因子 10、BMP4 的 RPMI 及 B27 培养基	含有肝细胞生长因子、抑瘤素 M 的高级 DMEM/F12 培养基、Matrigel
脑 ^[8]	人源胚胎干细胞和诱导性多能干细胞系	含有 endo-IWR1、LDN-193189、SB431542、β-巯基乙醇的 KSR 培养基	含有 NEAA、BDNF、GDNF 的 neurobasal-type differentiation 培养基、Matrigel	DMEM/F12 培养基、Matrigel
肾 ^[9]	人源胚胎干细胞和诱导性多能干细胞系	含有 Activin 的高级 RPMI 培养基	含有成纤维细胞生长因子 9、CHIR99021 的高级 RPMI 培养基	含有 CHIR99021、头蛋白、成纤维细胞生长因子 9 的高级 RPMI 1640 培养基
肺 ^[10]	人源胚胎干细胞系	含有 Activin A、BMP4 的 DMEM/F12 培养基	含有成纤维细胞生长因子 7、CHIR-99021、维甲酸的 DMEM/F12 培养基	DMEM/F12 培养基、Matrigel
乳腺 ^[11]	人源诱导性多能干细胞系	complete MammoCult 培养基	含有成纤维细胞生长因子 10、肝细胞生长因子、催乳素的 EpiCult B 培养基、Matrigel/Collagen I	含有成纤维细胞生长因子 10、肝细胞生长因子的 EpiCult B 培养基、Matrigel/Collagen I

含有多种细胞生长因子的液体培养基,用于促进类器官的生长以及诱导干细胞分化。如培养基中常含有 Wnt 信号通路的激活剂 R-spondin 1、Wnt3A。Wnt 通路不仅能诱导细胞增殖,还能使生长组织成形^[33],还有与 Wnt 信号通路相关的生长因子 Chir99021、A83-01 等。以及许多促进类器官构建和生长以及能够延长类器官寿命的生长因子如 EGF、烟酰胺、胰岛素、胃泌素、Y-27632 等。

ESC/iPSC 来源的类器官多了一个器官分化的步骤,其中最常见诱导的生长因子就是成纤维细胞生长因子。但有的需要特殊的生长因子,如甲状腺需要促甲状腺激素(TSH)、肝细胞需要肝细胞生长因子(HGF)、前列腺需要二氢睾酮(DHT)、前列腺素 E2(PGE2)等。

成体干细胞来源于正常人的组织样品而不是用于科学研究的人类胚胎,获取相对容易,伦理道德风险低,且无需进行胚层诱导和器官分化,未来应用的前景广阔。肿瘤类器官培养与成体干细胞来源类器官相似,但是所需要的生长因子有一定的区别。这两种类器官模型培养在取材时需要特别注意避免污染。

二、类器官构建目前存在的问题

目前较为成熟的类器官模型主要是上皮组织来源的,也存在一些缺陷。相对于动物模型,类器官缺乏神经系统、免疫系统、内分泌系统在目标组织中的调控作用,离达到体内环境还有一定的差距。如肠类器官目前只有粘膜层的成分,而粘膜下层、肌层、浆膜层尚未包含在内,憩室病因现在的肠类器官缺少肌层和神经系统而无法构建相应的模型^[34]。Workman 等^[5]把由胚胎和诱导多能干细胞培养的肠类器官和肠神经系统上皮细胞混合培养,在低速离心和电场刺激帮助下,通过类器官的自我组织能力,形成多组织成分、有层次的结构,构建出拥有神经系统的肠类器官。肠类器官在神经支配方面已经有所突破,迈出了完善类器官模型的第一步,或许其他的缺陷的成分也可以通过混合培养一步一步将类器官模型完善成为一个完整的器官?

类器官的基因表达和成体组织的基因表达有一定的区别,其更加倾向于胚胎组织的基因表达^[12,17]。与其他肿瘤研究模型一样,随着培养环境等因素的改变,可能使类器官模型发生基因组的改变,与来源组织的基因组有一定的差异。而这可能对遗传疾病相关模型及肿瘤药物筛选等有潜在的影响。

类器官的一个重要元件——人造的细胞外基质,大部分研究使用的都是 Matrigel,作为一种动物制品,虽然有利于细胞的生长和分化,但是组成成分复杂,较大的可变性让培养环境难以人为控制,降低实验的可重复性。而且 Matrigel 是不可用于人体移植的,这也是再生治疗的一个难点之一。目前还有其他选择,比如由聚乙二醇和硫酸化透明质酸合成的水凝胶^[20-21]。水凝胶相比于 Matrigel,其成分更加恒定可控,但其缺乏生物小分子肽等模拟体内微环境的所必需的元素,生物活性较差。继续改进人工细胞外基质,不仅可以改善类器官培养,还可以更好地评估类器官生长和分化的特定基质成分,甚至可以为生成临床级可供移植器官奠定基础。

三、小结与展望

虽然类器官模型还有许多不足之处,但其潜在的发展前景广阔。类器官模型的构建材料简单,能使用来源于人体组织的细胞,能模仿体内环境和细胞间的交互作用,培养效率高,耗时少,在疾病模型、发育生物学研究中有着巨大的潜力。

可以预见,在口腔医学方面,类器官同样拥有巨大的潜力。尤其是头颈部肿瘤方向,肿瘤类器官能够很好地在长期培养中保留来源肿瘤的突变基因,能够维持肿瘤的高度异质性,可以利用患者肿瘤来源的类器官进行个性化的药物筛选实验,得到疗效好、毒性低的最佳治疗方案,以实现精准医学^[31]。可以利用头颈部肿瘤类器官来筛选新型的肿瘤化疗药物,正常组织来源的类器官则可以用来评估新化疗药物对人体的毒性。

唾液腺类器官^[20-21]初步构建成功也给干燥综合征和放射性口炎的患者带来了新的治疗希望。舌类器官^[22]的出现也让因口腔癌手术切除舌头的病人在不久的将来有了大大改善其生活质量的机会。再生性牙髓治疗已为不可逆性牙髓炎或牙髓坏死的年轻恒牙提供了牙根继续发育的机会,甚至能够完全替代原坏死牙髓^[35],但其所需的干细胞、生长因子等方面仍然面临着许多技术难题,而类器官模型似乎能为这个迅猛发展的技术提供一些新思路?待构建技术成熟的时候,或许通过类器官技术能够体外构建出有复杂结构的牙胚,当牙胚在体外发育完成后,再植入因外伤或者牙周病缺牙的患者牙槽骨里。

类器官在口腔医学等方面有着广阔的发展前

景,但是现阶段口腔领域对类器官构建和应用的研究尚未深入开展,还需广大口腔医学工作者继续开拓探索。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参 考 文 献

- [1] Sato T, Vries RG, Snippert HJ, et al. Single Lgr5 stem cells build crypt-villus structures in vitro without a mesenchymal niche [J]. *Nature*, 2009, 459(7244): 262-265. DOI: 10.1038/nature07935.
- [2] Barker N, van Es JH, Kuipers J, et al. Identification of stem cells in small intestine and colon by marker gene Lgr5 [J]. *Nature*, 2007, 449(7165): 1003-1007. DOI: 10.1038/nature06196.
- [3] Thomson JA, Itskovitz-Eldor J, Shapiro SS, et al. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts [J]. *Science*, 2008, 282(5391): 1145-1147. DOI: 10.1126/science.282.5391.1145.
- [4] 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. DOI: 10.1016/j.cell.2006.07.024.
- [5] Workman MJ, Mahe MM, Trisno S, et al. Engineered human pluripotent-stem-cell-derived intestinal tissues with a functional enteric nervous system [J]. *Nature Medicine*, 2016, 23(1): 49-59. DOI: 10.1038/nm.4233.
- [6] McCracken KW, Catá EM, Crawford CM, et al. Modelling human development and disease in pluripotent stem-cell-derived gastric organoids [J]. *Nature*, 2014, 516(7531): 400-404. DOI: 10.1038/nature13863.
- [7] Guan Y, Xu D, Garfin PM, et al. Human hepatic organoids for the analysis of human genetic diseases [J]. *JCI Insight*, 2017, 2(17). DOI: 10.1172/jci.insight.94954.
- [8] Li R, Sun L, Fang A, et al. Recapitulating cortical development with organoid culture in vitro, and modeling abnormal spindle-like (ASPM related primary) microcephaly disease [J]. *Protein Cell*, 2017, 8(11): 823-833. DOI: 10.1007/s13238-017-0479-2.
- [9] Morizane R, Lam AQ, Freedman BS, et al. Nephron organoids derived from human pluripotent stem cells model kidney development and injury [J]. *Nature Biotechnology*, 2015, 33(11): 1193-1200. DOI: 10.1038/nbt.3392.
- [10] Miller AJ, Hill DR, Nagy MS, et al. In Vitro Induction and In Vivo Engraftment of Lung Bud Tip Progenitor Cells Derived from Human Pluripotent Stem Cells [J]. *Stem Cell Reports*, 2018, 10(1): 101-119. DOI: 10.1016/j.stemcr.2017.11.012.
- [11] Ying Q, Han B, Gao B, et al. Differentiation of Human Induced Pluripotent Stem Cells to Mammary-like Organoids [J]. *Stem Cell Reports*, 2017, 8(2): 205 - 215. DOI: 10.1016 / j. stemcr.2016.12. 023.
- [12] Finkbeiner SR, Hill DR, Altheim CH, et al. Transcriptome-wide Analysis Reveals Hallmarks of Human Intestine Development and Maturation In Vitro and In Vivo [J]. *Stem Cell Reports*, 2015, 4(6): 1140-1155. DOI: 10.1016/j.stemcr.2015.04.010.
- [13] Bartfeld S, Bayram T, van de Wetering M, et al. In vitro expansion of human gastric epithelial stem cells and their responses to bacterial infection [J]. *Gastroenterology*, 2015, 148(1): 126-136. e6. DOI: 10.1053/j.gastro.2014.09.042.
- [14] Huch M, Gehart H, van Boxtel R, et al. Long-term culture of genome-stable bipotent stem cells from adult human liver [J]. *Cell*, 2015, 160(1-2): 299 - 312. DOI: 10.1016 / j. cell.2014.11. 050.
- [15] Karthaus WR, Iaquinia PJ, Drost J, et al. Identification of multipotent luminal progenitor cells in human prostate organoid cultures [J]. *Cell*, 2014, 159(1): 163-175. DOI: 10.1016/j.cell.2014.08.017.
- [16] Broutier L, Andersson-Rolf A, Hindley CJ, et al. Culture and establishment of self-renewing human and mouse adult liver and pancreas 3D organoids and their genetic manipulation [J]. *Nature Protocols*, 2016, 11(9): 1724 - 1743. DOI: 10.1038 / nprot.2016. 097.
- [17] Loomans CJM, Williams Giuliani N, Balak J, et al. Expansion of Adult Human Pancreatic Tissue Yields Organoids Harboring Progenitor Cells with Endocrine Differentiation Potential [J]. *Stem Cell Reports*, 2018, 10(3): 712-724. DOI: 10.1016/j.stemcr.2018.02.005.
- [18] Fulcher ML, Randell SH. Human nasal and tracheo-bronchial respiratory epithelial cell culture [J]. *Methods Mol Biol*, 2013(945): 109-121. DOI: 10.1007/978-1-62703-125-7_8.
- [19] Linnemann JR, Meixner LK, Miura H, et al. An Organotypic 3D Assay for Primary Human Mammary Epithelial Cells that Recapitulates Branching Morphogenesis [J]. *Methods Mol Biol*, 2017(1612): 125-137. DOI: 10.1007/978-1-4939-7021-6_9.
- [20] Ozdemir T, Srinivasan PP, Zakheim DR, et al. Bottom-up assembly of salivary gland microtissues for assessing myoepithelial cell function [J]. *Biomaterials*, 2017(142): 124-135. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2017.07.022.
- [21] Srinivasan PP, Patel VN, Liu S, et al. Primary Salivary Human Stem/Progenitor Cells Undergo Microenvironment-Driven Acinar-Like Differentiation in Hyaluronate Hydrogel Culture [J]. *Stem Cells Translational Medicine*, 2017, 6(1): 110-120. DOI: 10.5966/sctm.2016-0083.
- [22] Hisha H, Tanaka T, Kanno S, et al. Establishment of a Novel Lingual Organoid Culture System: Generation of Organoids Having Mature Keratinized Epithelium from Adult Epithelial Stem Cells [J]. *Sci Rep*, 2013(3): 3224. DOI: 10.1038/srep03224.
- [23] Barbera M, di Pietro M, Walker E, et al. The human squamous oesophagus has widespread capacity for clonal expansion from cells at diverse stages of differentiation [J]. *Gut*, 2015, 64(1): 11-19. DOI: 10.1136/gutjnl-2013-306171.
- [24] Saito Y, Onishi N, Takami H, et al. Development of a functional thyroid model based on an organoid culture system [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 497(2): 783-789. DOI: 10.1016/j.

- bbrc.2018.02.154.
- [25] Kashfi SMH, Almozan S, Jinks N, et al. Morphological alterations of cultured human colorectal matched tumour and healthy organoids [J]. *Oncotarget*, 2018, 9 (12) : 10572 - 10584. DOI: 10.18632/oncotarget.24279.
- [26] Seidlitz T, Merker SR, Rothe A, et al. Human gastric cancer modelling using organoids[J]. *Gut*, 2019, 68(2) :207-217. DOI: 1136/gutjnl-2017-314549.
- [27] Broutier L, Mastrogianni G, Versteegen MM, et al. Human primary liver cancer - derived organoid cultures for disease modeling and drug screening[J]. *Nat Med*, 2017, 23(12) :1424-1435. DOI:10.1038/nm.4438.
- [28] Drost J, Karthaus WR, Gao D, et al. Organoid culture systems for prostate epithelial and cancer tissue [J]. *Nat Protoc*, 2016, 11 (2) :347-358. DOI:10.1038/nprot.2016.006.
- [29] Boj SF, Hwang CI, Baker LA, et al. Organoid models of human and mouse ductal pancreatic cancer[J]. *Cell*, 2015, 160(1-2) : 324-338. DOI:10.1016/j.cell.2014.12.021.
- [30] Walsh AJ, Cook RS, Sanders ME, et al. Quantitative optical imaging of primary tumor organoid metabolism predicts drug response in breast cancer[J]. *Cancer Res*, 2014, 74(18) :5184-5194. DOI:10.1158/0008-5472.CAN-14-0663.
- [31] Sachs N, Ligt JD, Kopper O, et al. A Living Biobank of Breast Cancer Organoids Captures Disease Heterogeneity [J]. *Cell*, 2017, 172(1-2) :373. DOI:10.1016/j.cell.2017.11.010.
- [32] Shah AT, Heaster TM, Skala MC. Metabolic Imaging of Head and Neck Cancer Organoids [J]. *PLoS ONE*, 2017, 12 (1) : e0170415. DOI:10.1371/journal.pone.0170415.
- [33] Nusse R, Clevers H. Wnt/ β -Catenin Signaling, Disease, and Emerging Therapeutic Modalities [J]. *Cell*, 2017, 169(6) :985-999. DOI:10.1016/j.cell.2017.05.016
- [34] Fair KL, Colquhoun J, Hannan NRF. Intestinal organoids for modelling intestinal development and disease [J]. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 2018, 373(1750) :20170217. DOI:10.1098/rstb.2017.0217.
- [35] Lin LM, Bill K. A review of regenerative endodontics: current protocols and future directions[J]. *J Istanbul Univ Fac Dent*, 2017, 51(3 Suppl 1) :S41-S51. DOI:10.17096/jiufd.53911.

(收稿日期:2019-01-04)

(本文编辑:王嫚)