

类器官芯片在临床医学中的应用进展

王欣晨^{1,2}, 陈友国¹

(1. 苏州大学附属第一医院, 江苏 苏州 215000; 2. 浙江省立同德医院, 浙江 杭州 310000)

摘要: 类器官芯片是利用先进的微流控技术模拟体内循环系统的状态下培养活细胞的技术, 更好地重现人体内生理及病理过程, 为生长发育、疾病状态和药物筛选等提供可靠及重复性高的临床前模型。它可以有效解决传统的 2D 细胞、动物和类器官模型无法良好复现人体内生理及病理过程, 预测药物等治疗能力较差的问题。类器官芯片中的活细胞可以来源于人多能干细胞, 健康或患者成体干细胞等。本文重点探讨类器官及类器官芯片发展过程, 制造类器官芯片材料的分类及现有新技术, 类器官芯片细胞培养中所遇到的问题及类器官芯片目前在临床医学上的应用。类器官芯片作为一种新兴的融合技术具有无限应用前景, 但其也面临着诸多的挑战, 如技术和材料上的问题。

关键词: 类器官芯片; 类器官; 微流控; 临床前模型; 药物筛选

中图分类号: R318

Progress in the application of organoid chips in clinical medicine

WANG Xincheng^{1,2}, CHEN Youguo¹

(1. The First Affiliated Hospital of Soochow University, Suzhou, Jiangsu 215000, China; 2. Tongde Hospital of Zhejiang Province, Hangzhou, Zhejiang 310000, China)

Abstract: Organoid chip is a technology that uses advanced microfluidic technology to simulate the state of the human circulatory system to culture living cells. This technology can better reproduce the physiological and pathological processes in the human body, and provide reliable and reproducible preclinical models for growth and development of disease or drug screening. It can also effectively make up for the issue that traditional 2D cell, animal and organoid models cannot well reproduce the physiological and pathological processes in the human body and predict the poor therapeutic ability of drugs. The living cells in the organoid chip can be derived from human pluripotent stem cells, healthy people or patient stem cells, etc. This article focuses on the development of organoids and organoids chips, the classification of organoids chip materials and existing new technologies, the problems encountered in organoids chip cell culture and the application of organoids chips in clinical medicine. As an emerging fusion technology, organoids chip has unlimited application prospects, but it also faces many challenges, such as technical and material problems.

Keywords: organoid chip; organoid; microfluidic; preclinical models; drug screening

在过去的几十年中,人类通过生物技术不断创造出像治疗性的单克隆抗体,腺相关病毒基因载体,小干扰 RNA 等生物疗法,这些新型的治疗方法正在逐步改变人类对疾病治疗的传统认知。对于新型治疗有效性的检验则需要更加可靠的临床前模型。目前,临床前模型主要为细胞及动物模型,尤其是基因工程小鼠,在细胞及动物模型上先确定药物的潜在靶标位置。然而结果却不尽如人意,尽管在实验中疾病的细胞及动物模型可能会出现与

人类相似的表型,但是人类和动物的潜在分子机制大相径庭,在这些模型中出现的潜在靶向治疗位点最后往往缺乏临床相关性^[1-2]。在美国,各大制药与生物技术公司每年花费数十亿美元去研究某一药物以获得美国食品和药品管理局(FDA)批准上市。但是,许多研究表明,动物实验结果不能很好的预测人类使用后的结果,很多药物和疫苗在临床前的小鼠及非人类灵长类动物模型实验中都获得了较好的结果,但是进入临床后却未显示出预期的效果。

例如结核分枝杆菌 MV85a 疫苗、HIV-1DNA/rAd5 疫苗和丙肝疫苗等^[3]。还有一些药物或生物疗法可能对人类有效,但是在动物模型实验中被证明无效或是有一定危险性而被剔除^[4]。那么构建能有效模拟人类生物学特性,对疾病及药物均有良好预测能力的实验模型,以解决现有的生物学及医学难题迫在眉睫。

类器官是在体外培养的人多能干细胞(hPSCs)或来源于健康个体或患者成体干细胞(AsSCs)产生的三维(3D)微型结构,可以再现人体器官的细胞结构,功能及组织特异性。由于类器官具有原始器官的遗传及生物学特性,在生物学及医学研究和临床前药物测试中具有巨大的应用前景,目前已被应用于个性化、再生医学、基因修复及器官移植等治疗^[5]。以往类器官的培养需要不同的生长因子的序贯添加,这种培养方法虽然简单易行,但是该培养方法无法做到精准调控类器官生长及其微环境变化^[6-7]。使得类器官无法更好地模拟体外人体器官生物学功能,从而限制其在生物学及医学领域的使用及发展。为了解决类器官培养技术上的局限性,从事干细胞及生物发育学的研究人员与工程师和物理学家等科学家联合构建有效的类器官体外模型,一种更新颖的类器官芯片技术应运而生^[8]。

2016 年,世界经济论坛就以将类器官芯片评为十大新兴技术。组织工程及微加工技术的发展推动了类器官芯片技术的发展,这些新兴的技术更加注重培养细胞时的微环境及细胞几何排列,实现了细胞培养技术从传统的 2D 单一培养模式转变为 3D 共同培养模式。从而能够获得更加稳定的细胞功能,观察细胞与细胞之间化学及电信号交流等生物学过程^[9-12]。此外,微系统技术推动了类器官芯片微流控及微型化驱动器及传感器的发展,是一个具有里程碑意义的重要技术,该技术是基于集成电路原理而设计,并利用软光刻技术来实现纳米及微米级的类器官芯片^[13]。其次,细胞系是类器官芯片实现应用价值的基础部分,怎样使类器官芯片具有个性化患者特征,目前可利用多能诱导干细胞技术(iPSC)将不同患者细胞整合到类器官芯片中,构建不同种类类器官芯片,研究疾病之间表型的差异及对药物的特异性反应等^[14-16]。除了上述各大技术日新月异的进步,材料学的快速发展也为类器官芯片的构建创造了条件。例如,聚二甲基硅氧烷(PDMS)目前广泛应

用于利用软光刻技术构建的类器官芯片,PDMS 制作简单,成模性、弹性及渗透性好等优点^[17]。类器官芯片是依据集成电路的原理并利用计算机微芯片微加工制作技术,根据靶器官最小生物学功能单元,对靶器官功能单元进行检测,以确定这些功能单元的不同细胞组成类型及特异性的生化及物理微环境,以此为基础构建体外组织细胞解剖微模型的体外培养技术,从而代替传统细胞及动物模型,进行机体不同生理过程模型及疾病病理过程模型的构建,药代和药效动力学及药物敏感,再生医学及器官移植等机制研究。

本文将重点介绍类器官芯片培养材料和技术上的更新,培养时所遇到的问题及临床医学研究上应用进展等内容。

1 类器官和类器官芯片

类器官和类器官芯片是两种完全不同但又互补的技术,其共同目标就是构建有效的体外靶器官模型,以实现各种生物学及医学用途。类器官是利用组织干细胞的自身生长发育程序,在体外进行人工培养。传统的类器官培养方法有深层液体培养法、气液共培养法,以深层液体培养法举例,如:肠道类器官的建立可以以纯化的成人小肠隐窝或是分选纯化的 LGR5+肠道干细胞(ISCs)为细胞系,并在生长因子的诱导下模拟干细胞龛形成。该培养条件包含有 Wnt 通路,表皮生长因子(EGF),骨形态发生蛋白(BMP)抑制剂 Noggin 等,使得 ISCs 能够长期自我更新并分化为靶细胞谱系,最终形成高度极化的 3D 上皮结构,肠道隐窝-绒毛室^[18]。人体器官在生长发育,分化发展过程中保持着高度可重复性。但是,类器官是在体外培养的靶细胞 3D 微结构,其无法实现高度可重复性。类器官在生长发育过程中,会出现大小、组织结构、生物学功能及基因表达的巨大差异。类器官批次间的差异,会限制其在疾病模型应用,药物筛选及器官移植等医学领域的转化应用^[8]。类器官仅依靠被动扩散来接受营养物质及氧气,并排出代谢产物,但是当类器官代谢加快时,这种被动扩散方式就无法支持类器官的生长发育^[19]。与之相比,类器官芯片是利用现有人体器官生物解剖微结构,来构建组织细胞微结构及微环境,并精准调控细胞生长及微环境变化。尽可能去还原解剖微结构,模拟正常组织器官能量摄取及代谢产物的排出模式,使得细胞及组织

能够正常生长发育，完成原有生物学功能。例如肺的最小解剖功能单元是肺泡，肺泡-毛细血管单元即气-血屏障是由Ⅰ型肺泡上皮细胞、基膜、薄层结缔组织、毛细血管基膜及内皮细胞组成。肺泡壁是由Ⅰ型肺泡上皮细胞（扁平细胞，其基膜紧贴毛细血管），Ⅱ型肺泡上皮细胞（分泌上皮，可以分泌肺泡表面活性物质），隔细胞（位于肺泡间隔中）和肺泡隔（是相邻两个肺泡间的结构，有结缔组织和丰富的毛细血管组成）。值得注意的是，人在呼吸运动时，肺泡-毛细血管单元会在呼吸诱导下会被周期性机械性牵拉，这是在制作类器官芯片时应注意的特异性微环境。该细胞培养装置应模拟气-血屏障，该装置由多个独立微腔室构成，微腔室被分为上下两层的双通道，中间有一层柔性微孔膜结构分隔。上层可供气体自由流通；中间层的微孔膜可供肺泡上皮细胞及肺微血

管上皮细胞在膜两侧共培养，模拟气体交换屏障；下层可供液体流通，模拟血流系统。为了更好地模拟呼吸过程中肺泡的机械性牵拉作用，该装置两侧设置了真空腔，以模拟呼吸过程中的肺泡-毛细血管单元受到的机械性牵拉作用。最后根据此设计，利用软光刻等微加工技术来完成类器官芯片的制作^[8, 20-21]。

2 类器官芯片的材料分类及技术上的更新

2.1 类器官芯片制作材料分类

根据不同组织细胞的特性，类器官芯片的制作可能需要依赖各种不同的材料。根据材料的不同，可以将材料大致分为合成材料，合成材料又分为弹性合成材料、热塑性合成材料；杂化材料；天然材料；无机材料等。下面列举了一些常用的材料特性^[22]。见表 1、表 2。

表 1 常见弹性合成材料的优缺点及应用模型

材料	优点	缺点	应用模型	参考文献
PDMS	造价低,成模性好;透光且柔韧性;生物兼容性好,气体渗透性高	易吸附疏水性分子;亲水性;不兼容有机溶剂	肺、肠、心-肝芯片、骨再生等	[23]、[24]、 [25]、[26]
SU-8	机械强度高;透光性好;化学性质稳定;耐溶剂	易碎性,不利于运输;与硅、金等材料粘附性好,对玻璃氮化物或氧化物粘附性差	胰腺-肝芯片,血-脑屏障模型等	[27]、[28]
Polystyrene	造价低;透光性好;硬度高;生物兼容性好,表面易功能化	制作设备造价高;对其他溶剂耐受性差	生物传感器,药物分析等	[29]、[30]
PPS	生物兼容性好;工艺及降解率可控	降解率快;降解后释放酸性代谢产物,可能会引起宿主炎症反应	组织工程	[31]、[32]
Polyurethane	柔韧性好,机械强度适中;耐磨性好,具有化学惰性	恶臭,会释放有毒烟雾,会对皮肤及呼吸系统造成损伤	肿瘤模型,组织工程等	[30]、[32]
FEMP	可以抗高温高压;可耐受无机酸和有机酸	比 PDMS 的气体渗透性和亲水性差;需要大型设备制作	肠道芯片,药物分析等	[33]、[34]

表 2 常见热塑性合成材料的优缺点及应用模型

材料	优点	缺点	应用模型	参考文献
PMMA	造价低,可重复使用;透光性好,气体渗透性;耐溶剂性好,耐酸碱性好	低疏水性;制作设计昂贵	肝脏芯片,肺脏芯片,肿瘤模型等	[35]、[36]、 [37]
COC	透光性较好,气体渗透性较好;耐溶剂性好,耐热性好,耐酸碱性好	少量自发荧光;表面具有疏水性	多层微流控装置,药物分析等	[38]、[39]
polystyrene	造价低,可快速粘合;透光性较好,气体渗透性较好;耐溶剂性差,耐酸碱性好	当表面积过大是,其内膜通道容易塌陷	心脏芯片,心血管模型等	[40]
FEP	透光性好,气体渗透性差;耐溶剂和酸碱性好;具有防污性且柔软	黏性差	组织工程等	[41]

杂化材料是同时具有天然及合成材料优势的新型材料，对细胞有更好的亲和性，其降解产物属于天然成分。杂化材料的可控性及可降解性为类器官芯片提供了更好的材料^[22]。天然材料主要包括胶原蛋白^[42]、明胶^[43]、纤维蛋白^[44]、透明质

酸^[45]、甲壳素和壳聚糖^[46-47]、藻酸盐^[48]，这些天然材料来自人体组织，生物兼容性较好，能为干细胞的生长发育、增殖、迁移提供更加稳定的环境。无机材料主要包括玻璃、硅和纸等材料。

2.2 类器官芯片制作的技术更新

2.2.1 生物仿生膜工程 类器官芯片是一种能够模拟器官功能的仿生系统，在类器官芯片各个组成部分中，生物仿生膜是一种可控的模仿生物系统的重要组成部分。生物仿生膜可以模拟细胞外基质，并用于微流控仿生生物膜工程^[49]。在体内，生物膜参与各种生理过程，如细胞间电化学信号传导，物质交换及运输等。生物仿生膜有利于我们可能更加清晰地去了解细胞膜的生物学功能，为疾病的治理提供有效方法^[50]。例如，生物仿生膜可利用粒子被动扩散原理来模拟细胞膜功能，来评估经皮给药的药物扩散模型^[51]。

2.2.2 生物打印技术 目前，虽然已有多种先进的技术和设备用来制造类器官芯片，但是在制作过程中仍出现很多问题。现有的主要技术难题是类器官芯片中细胞导入量低。最初，类器官芯片的制备及注入细胞的过程需要人工手动操作。研究人员人工将细胞悬液或是负载细胞的水凝胶吹打入所需要培养的芯片部位，这个操作过程无法做到标准化。此外，类器官芯片中的细胞数量应是真正靶器官成比例的缩减，正常比例的存活细胞才能体现靶器官的生理功能，对各种刺激的反应才具有真实性及准确性^[52-53]。细胞及组织的生物 3D 打印技术的快速发展，逐渐使上述生产过程标准化且自动化。生物打印技术是将先进的 3D 打印技术与生物材料相结合，从而构建复杂且精密的类器官芯片^[54]。生物打印技术从 1984 年开始迅速发展^[55]。目前生物打印技术主要分为喷嘴方法和基于光学设备的光辅助方法。后者是一种新兴的高分辨率生物打印技术^[56]。生物 3D 打印机可安装于无菌环境中，有效避免了传统人工操作过程中可能的污染^[57]。因为生物 3D 打印技术的标准化及自动化，可以有效节约构建类器官芯片的时间成本^[58]。普通移液器接种细胞时，需要 24 h 才能使细胞固定，而生物 3D 打印技术可以快速固定细胞，允许直接引入流动液体。生物 3D 打印技术具有高通量，可重复性特点，其过程标准化且自动化，可实现类器官芯片批量生产^[54]。

2.2.3 微流控技术 类器官芯片是一种能够模拟人体内组织细胞微环境的微流控体外细胞培养装置^[59]。类器官芯片主体由流体电路板构成，流体电路板是通过开放标准接口来微流控制多种组件，如传感器等^[59]。微流控技术就是一种模拟人体循环系统的技术。循环系统是人体完成各种生理及

病理过程不可缺少的部分，其包含血液、淋巴液、尿液等，承载着气体，营养物质及代谢产物等的运输及交换，并将人体各大器官紧密连接，所以大部分的类器官芯片中都有一个主动灌注的管腔系统^[60]。微流控控制系统保证了类器官芯片有恒定及脉冲式循环系统，更好地模拟人体内组织细胞微环境。

3 类器官芯片中组织细胞培养的问题

3.1 微环境中生物机械力作用

人体从胚胎发育起会经历各种类型的生物机械力，如血液的流体剪切力，单细胞的牵拉力和大细胞群（心脏收缩、呼吸运动等）的协调机械活动产生的生物机械力^[61]。越来越多的研究表明，如果在组织细胞培养中缺乏这些生物机械力的作用会影响类器官芯片中的组织细胞正常生理功能的形成^[8]。目前微工程技术已经可以解决这一问题，并可以模拟应用类似的生物机械力。例如 LEE 等^[62]制造了一种胃模型类器官芯片，该装置是将人多能诱导干细胞（PSCs）培养在管腔中，管腔两侧与一对微电流套管连接。管腔中有液体流动，模拟胃内容物，管腔两侧的微电流予以管腔刺激，模拟胃的节律性舒张运动。

3.2 微环境中营养物质

培养组织细胞时需要运送氧气及营养物质并排出代谢产物，但是随着组织细胞的不断增殖及分化，氧气和营养物质可能无法满足组织细胞的需求^[19]。这是类器官芯片寿命缩短，无法长期培养的原因。人类的胚胎发育过程中，需要大量的脉管系统参与辅助完成，依据这一思想原理，我们在培养类器官芯片时也应模拟大量血流的灌注^[63]。例如 SHIRURE 等^[64]制造了一种肿瘤模型类器官芯片，一个肿瘤腔室与三个中央腔室相联通并通过微流控来控制血流灌注，肿瘤腔中的肿瘤细胞来自乳腺癌患者，中央腔室中的血管是由血管内皮细胞与成纤维细胞共培养而形成。虽然这种血管形成方式与胚胎中血管形成方式不同，但是微流控平台可以模拟肿瘤周围的血管生理灌注，使中央腔中的血管长入肿瘤腔中，最终完成肿瘤血管化。通过这种培养模式，肿瘤细胞可以维持长达 22 d 之久。

3.3 微环境中化学信号

在培养类器官时，需要以特定的时间顺序给予合适浓度的形态生成素刺激干细胞，以激活下

游的细胞信号通路,从而使干细胞生长分化为目的靶器官^[65]。在传统类器官培养过程中,以人工方式在特定的时间加入外源性形态生成素,外源性形态生成素与细胞自分泌的细胞因子就可在类器官局部微环境中形成化学梯度浓度,以诱导细胞特定的生长分化。形态生成素是以浓度依赖的方式来影响组织细胞生长发育的,组织细胞暴露在不同梯度浓度的信号水平,会产生出不同的转录水平及细胞结局等的变化。但是这种人工模拟化学梯度浓度是不稳定的,且不可控的,往往不能很好地模拟人体内器官生长发育所需要的局部微环境化学信号变化^[66]。目前研究人员正在利用微工程技术来尝试解决这以问题,例如基于微流控系统构建神经管体外发育模型,这个模型包括一个中央控制室,两侧各有一个微通道,该模型中的细胞系为胚胎干细胞(ESC),将其培养于中央控制室中。两侧微通道中分别循环流动混有不同比例浓度的 sonic hedgehog (Shh) 和 bone morphogenetic protein (BMP) 细胞因子,在中央控制室腔外形成浓度梯度差,以模拟神经管背腹轴不同生长分化趋势^[67]。

3.4 多器官系统共培养

人体内各种复杂的生理及病理过程往往需要多器官系统共同合作完成。为了更好地模拟人体内真实的器官间互作时的过程,研究人员利用微工程技术平台在体外构建多器官共培养芯片,模拟体内多器官相互作用^[68]。例如:JIN 等^[69]利用微流控矩阵来模拟肝脏和胃肠道多器官共培养模型。不同的组织分别培养在不同腔室,腔室之间利用摇床诱导介质来模拟不同脏器系统之间的物质交流。该模型被用于探究体内肝肠互作调节胆汁酸稳态机制。当对该模型予以外源性胆汁酸刺激时,肠道类器官通过旁分泌因子作用于肝脏类器官,肝脏类器官中胆汁酸合成酶表达减少,该模型证明了对于体内某一信号变化,可能需要多器官互作,只对某一器官单独造模不能很好的模拟体内生理及病理过程。

4 类器官芯片在临床医学中的应用

4.1 肝脏类器官芯片

目前临床上已构建了多种肝脏类器官芯片,用于肝炎、肝毒性、肝脏药物代谢等机制研究。中国是乙型肝炎感染大国,目前利用乙型肝炎患者来源肝细胞制作的肝脏类器官芯片已经成功复

刻了乙型肝炎病毒在体内的生命周期,主要包括乙型肝炎病毒的复制和乙型肝炎病毒共价环状 DNA 的维持等。此外,该芯片模拟自然免疫反应与乙型肝炎患者中自然免疫反应相似^[70]。肝脏类器官芯片的另一用途是模拟人类的肝毒性反应,由微工程多空屏障技术(模拟内皮细胞通透性屏障)分离出的原代人肝细胞构建的类器官芯片较好的模拟出肝窦状隙生物学功能,可以进行大分子物质运输,重现了抗炎药双氯芬酸的代谢肝毒性^[71]。临床上还可利用不同来源的供体肝细胞构建多个类器官芯片研究不同人种对肝脏药物代谢的影响。分别对六种不同药物进行损耗普分析发现,不同供体之间基因表达水平,药物代谢及肝细胞生物学功能均存在较大差异,且芯片预测的药物清除率与实际观察的药物清除率有良好的相关性^[72]。

4.2 心脏类器官芯片

目前临床上应用的心脏类器官芯片模型大致分为两种。一种是在单通道微流控装置中培养多能诱导干细胞来源的心肌细胞,其细胞外基质上连接了多电极阵列,用于实时检测组织水平的电生理反应,该模型已被用于心脏毒性药物的研究,如特非那顶和其无毒性代谢产物非索非那定之间的差异^[73]。另一种心脏类器官芯片则是利用微加工联合 3D 打印技术构建多能诱导干细胞来源的心肌细胞和内皮细胞的微界面,重现临床上抗癌药物阿霉素对心脏心机的毒性作用^[74]。

4.3 肠道类器官芯片

临床上,已构建了多种大小肠模型用于各种肠道疾病、药物代谢及毒性的研究。肠道模型构建应注意生物机械力:一是管腔内动态流动流体,这对小肠的绒毛形成及大肠中杯状细胞及双侧黏液的形成均起到至关重要的作;另一种是类似于肠道的蠕动机械牵拉力,这样才能更好地模拟肠道微环境变化,该模型类似于上述的肺部类器官芯片模型,分为上下两层的双通道,中间层培养上皮细胞^[4]。近期,研究人员利用肠道类器官芯片模拟了一种在落后国家流行的儿童肠道炎症疾病,即环境肠道功能障碍(EED)。该疾病最主要的病理改变为肠道绒毛变钝及肠道屏障受损,导致对营养物质吸收受阻,如:脂肪酸摄取障碍和氨基酸转运受损。在构建该肠道疾病模型时,研究人员利用 EED 患者来源的肠上皮细胞,并将其培养于烟酰胺和色氨酸缺乏的微环境中。该模型

较好地重现了 EED 患者的疾病状态及转录水平的变化^[75]。在肠道类器官芯片中灌注外周血单核细胞共培养模型，可用于检测目前尚处于临床研发阶段的靶向人癌胚抗原的 T 细胞双特异性抗体的药物毒性。既往的动物实验模型无法进行准确评估^[76]。

4.4 胎盘类器官芯片

由于孕妇是较为特殊的群体，临床医师在选择治疗性药物时会格外谨慎。如何筛选出安全有效的药物就要构建能够有效模拟人体内胎盘屏障的模型。胎盘类器官芯片利用滋养细胞和内皮细胞共培养模拟妊娠期胎盘屏障，主要用于预测妊娠期用药的安全性，筛选药物以了解其穿透胎盘的能力。以妊娠期糖尿病格列本脲为模型药物，该类器官芯片可以重现外排转运体介导的胎盘屏障主动转运功能，从而避免胎儿暴露于母体药物环境中^[77]。

5 总结

目前药物研发是类器官芯片最具前景的医学临床应用。类器官芯片融合了现代微工程，微系统及微流控等先进技术和靶器官精准解剖微结构，比传统的细胞动物模型更好地模拟了人体内靶器官生物学功能，又弥补了类器官在造模时的不稳定因素。类器官芯片也可为患者提供个性化治疗，并可模拟构建人类特异性疾病模型^[78-79]。此外，由于类器官具有再生潜能，可有望应用于再生医学领域，但是类器官的移植成功率和安全性却使得其进行医学转化变为难题。类器官芯片可提供高通量分析平台，为类器官在体外培养创造条件^[19]。类器官芯片作为一种新兴的融合技术拥有无限未来，但其也面临着诸多的挑战。一是 PSCs 可用于构建类器官芯片的细胞系，该细胞系简单易得，且构建的类器官芯片性能稳定，可进行高通量检测。但是人多能诱导干细胞在培养过程中不能完全分化为成熟组织表型^[80]。另一个问题是药物有效吸收率，PDMS 是多用于构建类器官芯片的生物材料，但是 PDMS 具有高疏水性，所以仅具有高疏水性的药物会被显著吸收^[81]。

由于类器官芯片建模具有可重复性、精准性和稳定性，可进行高通量平台检测，且结果数据稳定，其未来可能会改变传统医学研究方式，替代细胞及动物实验，构建更加理想的生长发育及各种疾病模型，为药物筛选提供临床前模型及器

官移植提供可靠供体等。

参 考 文 献

- [1] SEOK J, WARREN HS, CUENCA AG, et al. Genomic responses in mouse models poorly mimic human inflammatory diseases[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, 110(9): 3507-3512.
- [2] FRANCO R, CEDAZO-MINGUEZ A. Successful therapies for Alzheimer's disease: why so many in animal models and none in humans?[J]. *Front Pharmacol*, 2014, 5: 146.
- [3] GOLDING H, KHURANA S, ZAITSEVA M. What is the predictive value of animal models for vaccine efficacy in humans? the importance of bridging studies and species-independent correlates of protection[J]. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2018, 10(4): a028902.
- [4] INGBER DE. Human organs-on-chips for disease modelling, drug development and personalized medicine[J]. *Nat Rev Genet*, 2022, 23(8): 467-491.
- [5] TANG XY, WU SS, WANG D, et al. Human organoids in basic research and clinical applications[J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2022, 7(1): 168.
- [6] SASAI Y. Next-generation regenerative medicine: organogenesis from stem cells in 3D culture[J]. *Cell Stem Cell*, 2013, 12(5): 520-530.
- [7] MCCAULEY HA, WELLS JM. Pluripotent stem cell-derived organoids: using principles of developmental biology to grow human tissues in a dish[J]. *Development*, 2017, 144(6): 958-962.
- [8] PARK SE, GEORGESCU A, HUH D. Organoids-on-a-chip[J]. *Science*, 2019, 364(6444): 960-965.
- [9] SHAHIN-SHAMSABADI A, SELVAGANAPATHY PR. A 3D self-assembled *in vitro* model to simulate direct and indirect interactions between adipocytes and skeletal muscle cells[J]. *Adv Biosyst*, 2020, 4(6): e2000034.
- [10] WANG YQ, WANG L, GUO YQ, et al. Engineering stem cell-derived 3D brain organoids in a perfusable organ-on-a-chip system [J]. *RSC Adv*, 2018, 8(3): 1677-1685.
- [11] LEE SR, HYUNG S, BANG S, et al. Modeling neural circuit, blood-brain barrier, and myelination on a microfluidic 96 well plate [J]. *Biofabrication*, 2019, 11(3): 035013.
- [12] PARK SM, EOM S, HONG H, et al. Reconstruction of *in vivo*-like *in vitro* model: enabling technologies of microfluidic systems for dynamic biochemical/mechanical stimuli[J]. *Microelectron Eng*, 2019, 203/204: 6-24.
- [13] A guide to the organ-on-a-chip[J]. *Nat Rev Meth Primers*, 2022, 2: 34.
- [14] RAMME AP, KOENIG L, HASENBERG T, et al. Autologous induced pluripotent stem cell-derived four-organ-chip[J]. *Future Sci OA*, 2019, 5(8): FSO413.
- [15] ROWE RG, DALEY GQ. Induced pluripotent stem cells in disease modelling and drug discovery[J]. *Nat Rev Genet*, 2019, 20(7): 377-388.
- [16] RONALDSON-BOUCHARD K, TELES D, YEAGER K, et al. A multi-organ chip with matured tissue niches linked by vascular flow [J]. *Nat Biomed Eng*, 2022, 6(4): 351-371.

- [17] REN KN, ZHOU JH, WU HK. Materials for microfluidic chip fabrication[J]. *Acc Chem Res*, 2013, 46(11): 2396-2406.
- [18] LO YH, KARLSSON K, KUO CJ. Applications of organoids for cancer biology and precision medicine[J]. *Nat Cancer*, 2020, 1(8): 761-773.
- [19] BATLLE E, CLEVERS H. Cancer stem cells revisited[J]. *Nat Med*, 2017, 23(10): 1124-1134.
- [20] WHITESIDES GM, OSTUNI E, TAKAYAMA S, et al. Soft lithography in biology and biochemistry[J]. *Annu Rev Biomed Eng*, 2001, 3: 335-373.
- [21] HUH D, MATTHEWS BD, MAMMOTO A, et al. Reconstituting organ-level lung functions on a chip[J]. *Science*, 2010, 328(5986): 1662-1668.
- [22] NAHAK BK, MISHRA A, PREETAM S, et al. Advances in organ-on-a-chip materials and devices[J]. *ACS Appl Bio Mater*, 2022, 5(8): 3576-3607.
- [23] SHRESTHA J, RAZAVI BAZAZ S, ABOULKHEIR ES H, et al. Lung-on-a-chip: the future of respiratory disease models and pharmacological studies[J]. *Crit Rev Biotechnol*, 2020, 40(2): 213-230.
- [24] CARTER SS D, ATIF AR, KADEKAR S, et al. PDMS leaching and its implications for on-chip studies focusing on bone regeneration applications[J]. *Organs-on-a-Chip*, 2020, 2: 100004.
- [25] FERRARI E, RASPONI M. Liver-Heart on chip models for drug safety[J]. *APL Bioeng*, 2021, 5(3): 031505.
- [26] GUO YQ, LUO RH, WANG YQ, et al. SARS-CoV-2 induced intestinal responses with a biomimetic human gut-on-chip[J]. *Sci Bull*, 2021, 66(8): 783-793.
- [27] ESSAOUBA A, OKITSU T, KINOSHITA R, et al. Development of a pancreas-liver organ-on-chip coculture model for organ-to-organ interaction studies[J]. *Biochem Eng J*, 2020, 164: 107783.
- [28] ZAKHAROVA M, PALMA DO CARMO MA, VAN DER HELM MW, et al. Multiplexed blood-brain barrier organ-on-chip[J]. *Lab Chip*, 2020, 20(17): 3132-3143.
- [29] BOSSINK EGBM, SLOB JVM, WASSERBERG D, et al. Versatile fabrication and integration method of optical oxygen sensors in organ-on-chips[C]//2020 IEEE SENSORS. October 25-28, 2020, Rotterdam, Netherlands. IEEE, 2020: 1-4.
- [30] LIU YZ, SAKOLISH C, CHEN ZW, et al. Human *in vitro* vascularized micro-organ and micro-tumor models are reproducible organ-on-a-chip platforms for studies of anticancer drugs[J]. *Toxicology*, 2020, 445: 152601.
- [31] CHEN QZ, ISHII H, THOUAS GA, et al. An elastomeric patch derived from poly(glycerol sebacate) for delivery of embryonic stem cells to the heart[J]. *Biomaterials*, 2010, 31(14): 3885-3893.
- [32] HAMMEL JH, COOK SR, BELANGER MC, et al. Modeling immunity in vitro: slices, chips, and engineered tissues[J]. *Annu Rev Biomed Eng*, 2021, 23: 461-491.
- [33] STEINWAY SN, SALEH J, KOO BK, et al. Human microphysiological models of intestinal tissue and gut microbiome [J]. *Front Bioeng Biotechnol*, 2020, 8: 725.
- [34] SANO E, MORI C, MATSUOKA N, et al. Tetrafluoroethylene-propylene elastomer for fabrication of microfluidic organs-on-chips resistant to drug absorption[J]. *Micromachines*, 2019, 10(11): 793.
- [35] BHISE NS, MANOHARAN V, MASSA S, et al. A liver-on-a-chip platform with bioprinted hepatic spheroids[J]. *Biofabrication*, 2016, 8(1): 014101.
- [36] NGUYEN T, JUNG SH, LEE MS, et al. Robust chemical bonding of PMMA microfluidic devices to porous PETE membranes for reliable cytotoxicity testing of drugs[J]. *Lab Chip*, 2019, 19(21): 3706-3713.
- [37] PALACIO-CASTAÑEDA V, KOIJMAN L, VENZAC B, et al. Metabolic switching of tumor cells under hypoxic conditions in a tumor-on-a-chip model[J]. *Micromachines*, 2020, 11(4): 382.
- [38] PAOLI R, DI GIUSEPPE D, BADIOLA-MATEOS M, et al. Rapid manufacturing of multilayered microfluidic devices for organ on a chip applications[J]. *Sensors*, 2021, 21(4): 1382.
- [39] AZIZGOLSHANI H, COPPETA JR, VEDULA EM, et al. High-throughput organ-on-chip platform with integrated programmable fluid flow and real-time sensing for complex tissue models in drug development workflows[J]. *Lab Chip*, 2021, 21(8): 1454-1474.
- [40] INBODY SC, SINQUEFIELD BE, LEWIS JP, et al. Biomimetic microsystems for cardiovascular studies[J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2021, 320(5): C850-C872.
- [41] FAJSTAVROVÁ K, RIMPELOVÁ S, FAJSTAVR D, et al. Cell behavior of primary fibroblasts and osteoblasts on plasma-treated fluorinated polymer coated with honeycomb polystyrene[J]. *Materials*, 2021, 14(4): 889.
- [42] GELSE K, PÖSCHL E, AIGNER T. Collagens: structure, function, and biosynthesis[J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2003, 55(12): 1531-1546.
- [43] GHASEMI-MOBARAKEH L, PRABHAKARAN MP, MORSHED M, et al. Electrospun poly(epsilon-caprolactone)/gelatin nanofibrous scaffolds for nerve tissue engineering[J]. *Biomaterials*, 2008, 29(34): 4532-4539.
- [44] AHMED TAE, DARE EV, HINCKE M. Fibrin: a versatile scaffold for tissue engineering applications[J]. *Tissue Eng Part B Rev*, 2008, 14(2): 199-215.
- [45] BURDICK JA, PRESTWICH GD. Hyaluronic acid hydrogels for biomedical applications[J]. *Adv Mater*, 2011, 23(12): H41-H56.
- [46] SINGH V, TIWARI A, TRIPATHI DN, et al. Microwave enhanced synthesis of chitosan-graft-polyacrylamide[J]. *Polymer*, 2006, 47(1): 254-260.
- [47] KUMAR MN, MUZZARELLI RAA, MUZZARELLI C, et al. Chitosan chemistry and pharmaceutical perspectives[J]. *Chem Rev*, 2004, 104(12): 6017-6084.
- [48] RUVINOV E, COHEN S. Alginate biomaterial for the treatment of myocardial infarction: progress, translational strategies, and clinical outlook: from ocean algae to patient bedside[J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2016, 96: 54-76.
- [49] RAHIMNEJAD M, RASOULI F, JAHANGIRI S, et al. Engineered biomimetic membranes for organ-on-a-chip[J]. *ACS Biomater Sci Eng*, 2022, 8(12): 5038-5059.
- [50] VANCE JA, DEVARAJ NK. Membrane mimetic chemistry in artificial cells[J]. *J Am Chem Soc*, 2021, 143(22): 8223-8231.
- [51] BECTON M, AVERETT R, WANG XQ. Artificial biomembrane

- morphology: a dissipative particle dynamics study[J]. J Biomol Struct Dyn, 2018, 36(11): 2976-2987.
- [52] PROBST C, SCHNEIDER S, LOSKILL P. High-throughput organ-on-a-chip systems: current status and remaining challenges[J]. Curr Opin Biomed Eng, 2018, 6: 33-41.
- [53] LOW LA, TAGLE DA. Organs-on-chips: progress, challenges, and future directions[J]. Exp Biol Med, 2017, 242(16): 1573-1578.
- [54] CHLIARA MA, ELEZOGLU S, ZERGIOTI I. Bioprinting on organ-on-chip: development and applications[J]. Biosensors, 2022, 12(12): 1135.
- [55] KARZYŃSKI K, KOSOWSKA K, AMBROŹKIEWICZ F, et al. Use of 3D bioprinting in biomedical engineering for clinical application[J]. Sm, 2018, 34(1): 93-97.
- [56] MIRI AK, MOSTAFAVI E, KHORSANDI D, et al. Bioprinters for organs-on-chips[J]. Biofabrication, 2019, 11(4): 042002.
- [57] DREXLER HG, UPHOFF CC. *Mycoplasma* contamination of cell cultures: incidence, sources, effects, detection, elimination, prevention[J]. Cytotechnology, 2002, 39(2): 75-90.
- [58] MATSUSAKI M, SAKAUE K, KADOWAKI K, et al. Three-dimensional human tissue chips fabricated by rapid and automatic inkjet cell printing[J]. Adv Healthc Mater, 2013, 2(4): 534-539.
- [59] VIVAS A, VAN DEN BERG A, PASSIER R, et al. Fluidic circuit board with modular sensor and valves enables stand-alone, tubeless microfluidic flow control in organs-on-chips[J]. Lab Chip, 2022, 22(6): 1231-1243.
- [60] COCHRANE A, ALBERS HJ, PASSIER R, et al. Advanced *in vitro* models of vascular biology: human induced pluripotent stem cells and organ-on-chip technology[J]. Adv Drug Deliv Rev, 2019, 140: 68-77.
- [61] VINING KH, MOONEY DJ. Mechanical forces direct stem cell behaviour in development and regeneration[J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2017, 18(12): 728-742.
- [62] LEE KK, MCCAULEY HA, BRODA TR, et al. Human stomach-on-a-chip with luminal flow and peristaltic-like motility[J]. Lab Chip, 2018, 18(20): 3079-3085.
- [63] WANG XL, PHAN DTT, SOBRINO A, et al. Engineering anastomosis between living capillary networks and endothelial cell-lined microfluidic channels[J]. Lab Chip, 2016, 16(2): 282-290.
- [64] SHIRURE VS, BI Y, CURTIS MB, et al. Tumor-on-a-chip platform to investigate progression and drug sensitivity in cell lines and patient-derived organoids[J]. Lab Chip, 2018, 18(23): 3687-3702.
- [65] KRETZSCHMAR K, CLEVERS H. Organoids: modeling development and the stem cell niche in a dish[J]. Dev Cell, 2016, 38(6): 590-600.
- [66] ROGERS KW, SCHIER AF. Morphogen gradients: from generation to interpretation[J]. Annu Rev Cell Dev Biol, 2011, 27: 377-407.
- [67] DEMERS CJ, SOUNDARARAJAN P, CHENNAMPALLY P, et al. Development-on-chip: *in vitro* neural tube patterning with a microfluidic device[J]. Development, 2016, 143(11): 1884-1892.
- [68] DENKOVA AG, DE KRUIJFF RM, SERRA-CRESPO P. Nanocarrier-mediated photochemotherapy and photoradiotherapy [J]. Adv Healthc Mater, 2018, 7(8): e1701211.
- [69] JIN Y, KIM J, LEE JS, et al. Drug screening: vascularized liver organoids generated using induced hepatic tissue and dynamic liver-specific microenvironment as a drug testing platform (adv. funct. mater. 37/2018) [J]. Adv Funct Materials, 2018, 28(37): 1801954. .
- [70] ORTEGA-PRieto AM, SKELTON JK, WAI SN, et al. 3D microfluidic liver cultures as a physiological preclinical tool for hepatitis B virus infection[J]. Nat Commun, 2018, 9(1): 682.
- [71] LEE PJ, HUNG PJ, LEE LP. An artificial liver sinusoid with a microfluidic endothelial-like barrier for primary hepatocyte culture [J]. Biotechnol Bioeng, 2007, 97(5): 1340-1346.
- [72] TSAMANDOURAS N, KOSTRZEWSKI T, STOKES CL, et al. Quantitative assessment of population variability in hepatic drug metabolism using a perfused three-dimensional human liver microphysiological system[J]. J Pharmacol Exp Ther, 2017, 360(1): 95-105.
- [73] KUJALA VJ, PASQUALINI FS, GOSS JA, et al. Laminar ventricular myocardium on a microelectrode array-based chip[J]. J Mater Chem B, 2016, 4(20): 3534-3543.
- [74] ZHANG YS, ARNERI A, BERSINI S, et al. Bioprinting 3D microfibrinous scaffolds for engineering endothelialized myocardium and heart-on-a-chip[J]. Biomaterials, 2016, 110: 45-59.
- [75] BEIN A, FADEL C, SWENOR B, et al. Nutritional deficiency recapitulates intestinal injury associated with environmental enteric dysfunction in patient-derived Organ Chips [J]. medRxiv, 2021.
- [76] KERNS SJ, BELGUR C, PETROPOLIS D, et al. Human immunocompetent Organ-on-Chip platforms allow safety profiling of tumor-targeted T-cell bispecific antibodies[J]. eLife, 2021, 10: e67106.
- [77] BLUNDELL C, YI YS, MA L, et al. Placental drug transport-on-a-chip: a microengineered *in vitro* model of transporter-mediated drug efflux in the human placental barrier[J]. Adv Healthc Mater, 2018, 7(2): 10. 1002/adhm. 201700786.
- [78] EBRAHIMKHANI MR, YOUNG CL, LAUFFENBURGER DA, et al. Approaches to *in vitro* tissue regeneration with application for human disease modeling and drug development[J]. Drug Discov Today, 2014, 19(6): 754-762.
- [79] ZHANG BY, KOROLJ A, LAI BFL, et al. Advances in organ-on-a-chip engineering[J]. Nat Rev Mater, 2018, 3(8): 257-278.
- [80] SANCES S, HO R, VATINE G, et al. Human iPSC-derived endothelial cells and microengineered organ-chip enhance neuronal development[J]. Stem Cell Reports, 2018, 10(4): 1222-1236.
- [81] TOEPKE MW, BEEBE DJ. PDMS absorption of small molecules and consequences in microfluidic applications[J]. Lab Chip, 2006, 6(12): 1484-1486.

(方丽蓉 编辑)