

鼻黏膜类器官及器官芯片研究进展

郑海锐 李琦 赵云腾 刘蓉 魏金燕 李刚*

(南方医科大学南方医院, 广州 510515)

摘要 鼻黏膜作为呼吸系统与体外环境接触的第一道防线, 在疾病预防与治疗中发挥着举足轻重的作用。然而传统的体外模型存在多种限制, 难以满足现代医学研究的迫切需求, 随着生物医学技术的快速发展, 鼻黏膜类器官及鼻黏膜器官芯片的构建能够提供更准确、可靠的模型, 用以研究鼻黏膜相关疾病的病理过程和发生机制。该文较系统地综述了鼻黏膜类器官及鼻黏膜器官芯片在生理模型构建、疾病建模、药物筛选以及临床应用等多个领域取得的研究进展, 以期望为鼻黏膜类器官及器官芯片的发展与应用提供一定的参考。

关键词 鼻黏膜; 类器官; 器官芯片

Advances in the Research of Nasal Organoids and Nose-on-a-Chips

ZHENG Hairui, LI Qi, ZHAO Yunteng, LIU Rong, WEI Jinyan, LI Gang*

(Nanfang Hospital, Southern Medical University, Guangzhou 510515, China)

Abstract The nasal mucosa, as the first line of defense in contact with the external environment for the respiratory system, plays a crucial role in disease prevention and treatment. However, traditional *in vitro* models have various limitations and fail to meet the urgent demands of modern medical research. With the rapid development of biomedical technology, the construction of nasal organoids and nose-on-a-chip provides more accurate and reliable models for studying the pathological processes and pathogenesis of nasal-related diseases. This article provides a comprehensive review of the research progress achieved in the areas of physiological model construction, disease modeling, drug screening, and clinical applications of nasal organoids and nose-on-a-chip, hoping to provide a reference for the development and application of nasal organoids and nose-on-a-chip.

Keywords nasal mucosa; organoids; organ-on-a-chip

不同类型细胞之间的互动构成了人体不同的组织与器官, 形成了复杂的三维结构。但传统的体外细胞模型多为二维结构, 难以形成组织周围的微环境等因素, 进而影响细胞的功能和结构模式等^[1-2], 因此无法准确模拟人体组织和器官的复杂功能以及重要信号通路^[3-4]。由于动物模型的生理和遗传相关性与人体存在巨大差异^[5], 因此动物与人体实验结果相关性往往较低^[6-7], 此外, 成本高、制作困难和实验周期长等问题也制约了基因编辑等新技术的发展^[8-9]。随着生物医学技术的迅速发展, 亟需功能更全面、结构更

真实的体外研究模型。

类器官是一种来源于肿瘤组织或干细胞^[10]的多细胞三维结构培养物^[11], 在疾病建模^[12]和药物筛选^[13]等领域展现出了巨大的优势与潜力, 特别是在肺部^[14]和肝脏^[15]中取得了巨大的研究进展。自2009年CLEVERS等^[16]首次成功培养出肠道类器官以来, 科学界迅速掀起了研究类器官的热潮, 目前科学家们已经成功构建出包括鼻黏膜类器官模型^[17]在内的多种组织类器官模型^[12]。但目前的类器官仍存在缺乏可控的理化微环境条件和血管系统等限制, 而无法真实地反映组织的复杂结构和疾病的进展过程^[18]。而器官芯片(organ-on-a-chip)作为一种新兴的、变革性的技术, 它在很大程度上弥补了这部分的不足。器官芯片基

收稿日期: 2023-07-20

接受日期: 2023-10-29

*通讯作者。Tel: 13560378862, E-mail: lg@smu.edu.cn

Received: July 20, 2023

Accepted: October 29, 2023

*Corresponding author. Tel: +68-13560378862, E-mail: lg@smu.edu.cn

于微流控技术,是一种可以重现组织生理环境的体外培养微流体装置^[19],具有三维动态培养、高通量筛选和生理相关性高等多种优势,为现代生物医学研究和新药研发提供了更全面和真实的实验模型和研究方式。

鼻窦炎和过敏性鼻炎等鼻腔疾病给患者和社会都带来了巨大的负担。为了解决这些问题,我们迫切需要在诊疗方面取得新的突破。鼻黏膜类器官和器官芯片模型提供了一个可靠的体外模型,为疾病研究和药物治疗带来了新的视角。本综述将介绍和探讨鼻黏膜类器官和器官芯片的研究进展,并重点探讨它们在疾病模型构建及临床应用方面的进展。

1 鼻黏膜类器官的构建与应用

呼吸道的上皮层结构是具有一定连续性的假复层纤毛柱状上皮,但从单细胞测序研究的结果来看,鼻腔与支气管上皮之间存在一定的差异^[20-21]。首先,杯状细胞在上呼吸道中的表达十分丰富,它们通过分泌黏液起着保护和润滑作用。然而,杯状细胞在鼻黏膜中的表达比支气管上皮更加丰富,这说明鼻黏膜和支气管上皮在分泌和保护机制上可能存在差异。其次,鼻腔上皮和支气管上皮中的相同类型细胞也展现出不同的基因表达谱。这意味着即使是相同类型的细胞,在不同的呼吸道位置上也可能发挥着不同的功能以及参与着不同的调控机制。因此,尽管支气管上皮类器官的培养技术已经相对成熟,构建鼻黏膜类器官模型仍然具有非常重要的意义,其可更准确地模拟鼻腔上皮的特性和功能,从而更有助于鼻黏膜相关疾病发生机制以及诊断和治疗方法的研究。

1.1 鼻黏膜类器官培养体系构建

传统的二维细胞培养限制了对鼻腔疾病机制和治疗的深入探究,构建鼻黏膜类器官模型对于进一步理解鼻腔疾病的发生机制以及探索新的治疗方法都具有十分重要的意义。“扩增-分化”分段式鼻黏膜类器官培养法是一项非常有意且具有创新性的研究工作。将处理好的人鼻息肉样本^[17]加入鼻黏膜类器官扩增培养基培养7天,扩增培养完成后将培养基更换为分化培养基继续培养14天,通过这种方式构建的分化可控的鼻黏膜类器官模型病理学特征与正常鼻黏膜高度相似,其在鼻腔疾病发病机制探

究以及体外药物筛选等方面具有重大的应用潜力。

为了在体外建立嗅黏膜类器官,汪涵等^[22]使用三维细胞培养技术,通过筛选小分子药物,构建了包含多种细胞类型的嗅黏膜类器官模型。该类器官由嗅觉感觉神经元等多种细胞类型组成。通过统计分析和基因表达检测,他们发现类器官培养体系中多种生长因子和小分子化合物对类器官的细胞增殖速度、细胞组成以及不同细胞类型标志基因的表达水平等均存在影响。例如,WNT信号通路激活剂CHIR-99021可以促进类器官形成与增殖,并增加嗅觉感觉神经元细胞标记基因的表达水平。此外,EGF和维生素C等因子也可影响类器官中特定细胞群的比例和相应基因的表达。该团队所建立的嗅黏膜类器官系统模拟了嗅黏膜干细胞分化产生多种嗅黏膜细胞类型的过程,为研究嗅黏膜组织损伤再生和嗅觉障碍病理机制以及筛选治疗嗅觉障碍的药物提供了研究模型。

1.2 鼻黏膜类器官疾病模型构建

与传统体外二维培养相比,鼻黏膜类器官疾病模型在模拟真实的鼻腔微环境和病理过程中可发挥更大的优势,能提供更接近真实病理情况的三维结构,模拟疾病过程更加准确。

慢性鼻窦炎(chronic rhinosinusitis, CRS)是鼻科常见的疾病,其发病机制与感染等多种因素相关,但由于缺乏理想的体外研究模型等限制,其病因一直未能明确。为了克服这些限制,并更好地理解慢性鼻窦炎的病理过程,研究人员构建了CRS患者原代鼻腔上皮细胞(human nasal epithelial cells, HNECs)来源的鼻黏膜类器官,并探讨了它们的细胞特性与细胞形态^[23]。将细胞培养至成熟后,他们通过探索细胞形态、细胞组成和细胞功能参数,揭示了鼻窦炎类器官中的细胞特征和多种相关标记物的表达情况。此外,成功地冷冻和解冻鼻窦炎类器官还为高通量药物筛选和机制探究提供了可能性。这项研究的结果对于鼻窦炎相关的研究和治疗具有重要的实际意义。

研究人员VAN DER VAART等^[24]通过从原发性纤毛运动障碍(primary ciliary dyskinesia, PCD)患者和健康人群的鼻黏膜上皮中获取鼻拭子样本,构建了PCD和正常人群的鼻黏膜类器官,观察到了PCD类器官纤毛数量少、纤毛摆动幅度低或不摆动。研究人员发现通过在标准类器官培养基中添加DAPT

和BMP4并去除Noggin可抑制细胞中Notch信号的传导从而促进纤毛的分化,他们将这种培养基称为“纤毛培养基”。将正常和PCD鼻黏膜类器官于纤毛培养基中分化培养后均能观察到纤毛数量及纤毛相关基因表达量增加。研究者们通过将基因编辑技术与piggyBac载体系统联合,在PCD类器官上实现了高效矫正PCD相关突变基因以及鉴定突变等位基因的纯合与杂合修复,尽管矫正的类器官未能在体外稳定扩增,但这为研究PCD的诊断和治疗方法提供了新的模型和思路,并且展示了矫正的PCD类器官自体移植的潜力。

囊性纤维化跨膜传导调节因子(cystic fibrosis transmembrane conductance regulator, *CFTR*)基因的突变与囊性纤维化(cystic fibrosis, CF)的发生和发展密切相关。为了更好地将新的治疗方法应用于CF患者,个体化的*CFTR*精确治疗是必要的,但一直以来缺乏合适的模型来研究*CFTR*基因位点的表达活性。直到2020年,LIU等^[25]培养出了CF患者和健康受试者的具有良好分化能力的鼻黏膜类器官模型,验证了CF鼻黏膜类器官中关键基因*CFTR*的表达情况,比较并证明了两形成管腔能力的显著差异性。同时,该研究团队还进一步介绍了自动化*CFTR*活性功能测定方法,并使用基于基线管腔面积测量的显微成像方式评估了CF鼻黏膜类器官的分化情况^[26]。作为*CFTR*活性测量的金标准,短路电流不仅可准确评估*CFTR*活性水平,还可反映流体传输的下游效应,以便了解*CFTR*的整体功能。但体外通过测量短路电流评估*CFTR*活性水平往往比较繁琐,为了能在体外更简便地测量*CFTR*活性水平,ANDERSON团队^[27]开发了全自动鼻黏膜类器官肿胀测定方法来评估*CFTR*活性。他们通过比较CF鼻黏膜类器官与CF患者对*CFTR*调节剂的临床反应性,不仅证明了该肿胀测定方法评估*CFTR*活性的准确性,还验证了CF鼻黏膜类器官模型对于体外药物筛选的适用性。近期,已有研究证明了基于CRISPR的腺嘌呤基因编辑对于CF肠道类器官的适用性与有效性^[28],为基因编辑技术应用于CF鼻黏膜类器官提供了参考与指导。这些研究为探究CF的诊断和治疗方法提供了新的模型和工具,在探索疾病机制以及开发个体化治疗方法方面具有重要意义。

1.3 鼻黏膜类器官的临床应用

鼻黏膜三维细胞培养技术主要有鼻黏膜球状体

和鼻黏膜类器官。球状体是由细胞通过E-钙黏蛋白自发聚集黏合形成的致密球体结构^[29-30],可用于模拟器官结构与组织微环境,鼻黏膜球状体在PCD与CF疾病模型构建与应用上也已取得了一定成就^[31-32]。作为一种更先进的三维培养技术,鼻黏膜类器官与球状体在细胞来源、培养方式、细胞组分和结构形态上都有较大的差异,鼻黏膜类器官可展现出更复杂的结构特征与功能特性。

作为呼吸道的第一道防线,鼻腔对于阻止病毒、细菌等有害物质的入侵至关重要。为了评估具有呼吸道毒性的药物对鼻腔的潜在毒性,BALOGH等^[33]进行了一项研究,使用鼻黏膜类器官模型通过细胞毒性、黏膜屏障完整性、纤毛搏动频率和黏液纤毛清除等指标来验证并证明了鼻黏膜类器官模型能够提供更准确、可重复性更高的结果,这个模型在研究药物或化合物对鼻腔黏膜的影响方面具有重要意义。

新冠肺炎疫情对社会经济和人类健康造成了前所未有的冲击,SARS-CoV-2在人体之间具有极高的传染率,而鼻腔是呼吸道病毒侵入人体的第一站,鼻黏膜是SARS-CoV-2直接损伤的第一个靶器官,因此一个合适的体外鼻黏膜病毒感染模型对于理解与解释SARS-CoV-2在人体中的高传染性是十分重要的。来自香港大学的CHIU等^[34]将其构建的鼻黏膜类器官用于模拟上呼吸道感染过程,为评估SARS-CoV-2及其变异株的传染性提供了一个生理相关的模型。在降低分化培养基pH值后,分化出的鼻黏膜类器官表现出对SARS-CoV-2更高的感染性,比现有的类器官模型更具优势。此外,他们还证实了Delta和Omicron变异株通过破坏纤毛细胞并分解紧密连接,从而促进病毒的传播,揭示了这两个变异株相对于其他株的高传染性与传播能力。这项研究为探索病毒传播和感染机制提供了有价值的实验模型,并有助于指导疫情应对和病毒疫苗的研发。但我们仍需进一步的研究来深入了解病毒和变异株与人体上呼吸道的相互作用以及如何针对性地应对这些变异株的传播。

鼻腔给药已经在治疗鼻腔局部疾病和神经系统疾病方面有数十年的历史。随着鼻喷药物和鼻喷疫苗的开发和应用不断增加,一个安全、预测准确性高且能真实模拟鼻腔微环境的人源性体外模型变得迫切需要。其中,FAIS等^[35]利用人源鼻黏膜类器

官模型进行了鼻喷药物AM-301的测试, 不仅证明了它的安全性以及对病毒的有效抑制作用, 还验证了鼻黏膜类器官应用于鼻喷药物筛选的可行性。

CF患者由于CFTR的缺陷而往往存在离子转运和液体分泌功能减弱的现象。为了证明CF患者除CFTR外还存在其他离子通道和转运蛋白参与液体分泌, RODENBURG等^[36]利用CF患者鼻黏膜组织培养出了CF鼻黏膜类器官并观察到了缺乏CFTR的鼻黏膜类器官可分泌液体并形成内在管腔, 证实了存在非CFTR依赖性转运通道。为了能够更快速研究分析CF鼻黏膜类器官的离子和液体转运, 该研究团队研发了384孔板液体分泌筛选测定法, 并将该方法与CF鼻黏膜类器官运用于药物筛选。在大规模筛选了约1 400种FDA批准的治疗CF的药物后, 证实了其中12种药物可作用于非CFTR依赖性转运通道并诱导促进该通道的转运分泌。该研究不仅证明了鼻黏膜类器官可用于大规模药物筛选, 而且更重要的是揭示了上述药物对于非CFTR依赖性CF患者的潜在治疗效益。

1.4 鼻黏膜类器官目前存在的问题

尽管鼻黏膜类器官在分化培养、疾病模型构建以及临床应用上展现出了很大的优势与潜力, 但是仍存在一定的限制: (1) 建立的类器官模型缺乏结果的重复性; (2) 培养基中往往含有成分复杂的胎牛血清; (3) 当内部细胞体积大小在达到一定阈值时, 由于营养和氧气交换的限制其可能会发生坏死, 因此难以培养出符合实际器官大小的结构; (4) 目前构建的鼻部类器官模型主要集中在一些罕见病, 如CF、鼻咽癌等方面, 而对于一些在临床中较为常见的鼻黏膜疾病如过敏性鼻炎和慢性鼻炎等的类器官模型研究仍较少见。

2 鼻黏膜芯片的构建与应用

鼻黏膜器官芯片是一种基于鼻黏膜细胞培养、微流控和生物工程技术的器官模型, 它由多个微流控结构包括细胞培养区域、微型通道和传感器等组成。这些结构形成一个三维的模型, 使种植的鼻黏膜细胞能够生长和相互作用。同时, 通过控制温度控制器、气体和液体流动等因素, 鼻黏膜器官芯片可模拟出鼻腔的生理环境及功能。这为鼻腔疾病的诊断和治疗提供了重要的支持。在鼻黏膜器官芯片上, 研究人员可以模拟鼻黏膜细胞的生长和互动, 以

及液体和气体的流动情况, 进而深入研究疾病的发病机制。这种技术不仅为鼻腔疾病的治疗提供了新的途径, 还有助于减少对动物实验的需求, 提高研究的效率和可行性。

阻塞性睡眠呼吸暂停综合征 (obstructive sleep apnea syndrome, OSA) 是一种常见的睡眠障碍性疾病, 其特征是在睡眠时呼吸暂停或变浅, 导致睡眠质量下降和白天过度嗜睡的症状。正压通气是目前被广泛应用于OSA治疗的方法之一。正压通气治疗通过使用呼吸机或其他设备, 在整个呼吸周期中提供一定的正压, 可有效防止呼吸道阻塞和肺泡塌陷, 保持呼吸通畅, 提高血氧水平和气体交换功能。这种治疗方法已经被证实可以显著减少睡眠呼吸暂停事件以及改善患者的睡眠质量和日间嗜睡症状。然而, 正压通气装置施加的气流持续作用于鼻黏膜, 使鼻黏膜长期暴露于机械压力下, 因此促进了鼻黏膜并发症的发生。一些常见的鼻黏膜并发症包括鼻出血和鼻腔干燥。为了研究正压通气治疗与鼻黏膜并发症之间的关系, SHRESTHA等^[37]利用3D打印微流控技术构建了RPMI2650鼻黏膜芯片模型。该模型能够模拟人体鼻腔内的气流环境, 包括正压通气过程中的气流压力变化。研究结果表明, 正压通气治疗会对鼻黏膜产生一定的机械压力, 导致鼻黏膜屏障的完整性下降、细胞坏死程度增加以及炎症反应的发生, 从而引发鼻黏膜并发症。这项研究利用微流控技术构建了鼻黏膜模型, 为进一步研究正压通气治疗与鼻黏膜并发症之间的关系提供了实验平台。

甲醛是一种广为人知的呼吸道刺激物, 也被职业安全与健康管理局规定为潜在的职业致癌物质。人体鼻腔是气态甲醛的主要接触部位, 约有90%的甲醛通过鼻黏膜摄入。WANG等^[38]利用活体人鼻黏膜细胞(human nasal epithelial cells, HNECs)开发了一种可靠且有效的鼻腔芯片模型来评估气态甲醛对人体的毒性。将在Transwell板培养成熟的人鼻黏膜上皮纤毛细胞移植至微流控芯片中, 从而构建人鼻黏膜芯片, 利用实时成像技术监测人鼻黏膜上皮细胞表面纤毛的搏动模式。通过将气态甲醛输送到芯片上的HNECs中, 研究人不仅能够观察甲醛对上皮细胞的影响, 还能测量纤毛细胞对甲醛的反应性。同时, 该研究还证明了气态甲醛对HNECs产生了毒性影响, 并且当甲醛浓度低于一定限值时可增强黏膜纤毛功能, 然而高浓度的甲醛却可抑制这种生理

效应, 这些结果验证了该芯片动态监测系统的灵敏度和可靠性。此外, 他们还研究了甲醛在不同浓度和暴露时间下对上皮细胞的影响, 并将其与其他常用的毒性评估方法进行了比较, 研究结果表明, 该鼻腔芯片可作为一种体外评估气态甲醛毒性的可行方法。这对于评估甲醛及其他气体的毒性作用、制定相关的职业安全标准以及开发相关的治疗方法都具有重要的指导意义。

为了评估气流诱导的机械应力对黏液分泌的影响, BROOKS等^[39]开发了一种新型鼻黏膜器官芯片模型, 其在横贯式传输装置中结合了三维打印的人工鼻腔结构和细胞培养室。这个模型可以模拟呼吸过程中的双向气流流动以及气流的恒温与恒湿, 并通过调整气流速度和流动模式, 对呼吸过程中气流产生的机械应力诱导的黏液分泌进行评估, 以最终明确机械应力对黏液分泌的调控作用。此外, 由于鼻腔不同区域的黏液产生水平存在一定的差异^[40], 该芯片模型还可针对鼻腔黏膜不同区域而产生不同的黏液水平。上述研究结果证明了该鼻黏膜芯片对于探究气流诱导的机械应力与呼吸系统黏液分泌关系的适用性, 为研究呼吸系统的机械生物学机制提供了一种可靠的模型。

除了在鼻腔相关方面的研究外, 鼻黏膜芯片还可用于肺部疾病的诊断。CHIU等^[41]构建了一种完全集成的鼻芯片用于快速诊断呼吸机相关性肺炎(ventilator associated pneumonia, VAP)。该芯片由一组集成传感器和相关电路组成, 能够生成与输入气体相对应的特定响应模式。这种芯片使用了一种新颖的神经硬件系统来模拟生物神经元, 通过对传感器数据进行预处理和数据降维, 芯片能够准确识别出不同类型的气味, 并输出相应的诊断结果。它的基本工作模式是通过VAP和健康人群气体样品进行嗅觉传感, 利用传感器阵列检测并识别出气体中与肺炎相关的微生物, 通过数据的转换分析与处理, 实现肺炎的诊断。

鼻黏膜芯片不仅可以模拟鼻黏膜功能, 还可以用于鼻腔药物监测。GHOLIZADEH等^[42]使用人鼻细胞系RPMI 2650构建了鼻黏膜芯片, 并使该鼻黏膜芯片搭载了一种基于碳纳米纤维的电极以用于鼻腔药物转运的实时定量监测。他们通过运用开尔文四线检测技术实时测量跨内皮细胞电阻以及利用电化学分析和高效液相色谱法对芯片内药物进行定量

和验证, 证明了该芯片在实时定量测量鼻腔药物转运速率上的有效性。这种芯片模型能够在生理相关的动态条件下进行鼻腔药物转运实验, 为鼻腔给药的研究和开发提供了一种新的方法, 同时进一步推进了体外鼻腔药物筛选的发展。

目前关于鼻黏膜芯片的研究罕见, 现有的鼻黏膜芯片大都存在结构复杂、制作困难、结果可重复性低等缺陷, 同时针对药物的评估方式和指标不统一, 难以实现体外高通量药物筛选。

3 讨论与展望

类器官是生物医学领域近年来备受关注的研究热点, 它在模拟人体器官的结构和功能方面展示了广阔的发展前景。特别是在药物筛选、疾病建模和精准治疗等领域, 鼻黏膜类器官展现出了巨大的优势。同时, 随着技术的进步, 鼻黏膜类器官在个体化治疗和再生医学领域也逐渐显示出了巨大潜力。类器官与CRISPR基因编辑技术的结合^[43]将进一步推动其在精准定向探索与了解疾病相关的生理病理机制方面的应用。尽管鼻黏膜类器官在器官移植方面前景广阔, 但目前相关研究仍处于起步阶段, 大部分技术仍不成熟。肠道^[44]及乳腺组织器官^[45]移植已经取得了一定的进展, 但器官移植在鼻腔方面仍存在较大的研究空白, 需要进一步开拓与深入研究。尽管目前存在一定的技术限制, 但可以相信, 不久的将来, 类器官在鼻黏膜移植方面将扮演重要的角色。

鼻黏膜类器官目前仍面临可重复性差、缺乏液体灌流以及机械应力等挑战。具有一定机械和生理活性的鼻黏膜芯片仿生微系统在共培养及动态气液灌流等方面有着独特的优势。尽管目前的鼻黏膜芯片在组织结构和生理平衡方面仍存在局限性, 但在疾病建模、高通量药物筛选和毒性评价等方面显示出更全面的优势。

类器官和器官芯片作为体外模型, 都具有各自的优势和限制。为了构建人源性三维器官芯片, 我们期望能够结合这两种模型的优势。具体来说, 我们可以将鼻黏膜类器官和鼻黏膜芯片结合起来, 构建一种鼻黏膜类器官芯片。通过结合类器官和器官芯片的优势, 并运用微流体技术进行精确调控, 为类器官提供营养、清除废物以及重塑细胞微环境, 从而构建出更接近真实器官的人源性鼻黏膜类器官芯片, 为研究鼻腔相关疾病如过敏性鼻炎、鼻窦炎等

提供更准确的模型, 并为个性化治疗提供基础。这类器官芯片可以在疾病机理研究、药物筛选和毒性评估等领域发挥重要作用, 为临床医学研究和药物开发提供更可靠和高效的工具。

总的来说, 类器官芯片技术为研究和开发类器官提供了一种新的方法, 可以解决传统培养的限制, 进一步促进对鼻黏膜类器官以及其他类器官的理解和应用。然而, 虽然类器官芯片技术具有很大的潜力, 但仍需进一步的研究和发展, 以更好地在体外实现器官的功能特性。

参考文献 (References)

- [1] KILIAN K A, BUGARIJA B, LAHN B T, et al. Geometric cues for directing the differentiation of mesenchymal stem cells [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107(11): 4872-7.
- [2] NELSON C M, BISSELL M J. Of extracellular matrix, scaffolds, and signaling: tissue architecture regulates development, homeostasis, and cancer [J]. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 2006, 22: 287-309.
- [3] ZIÓŁKOWSKA K, KWAPISZEWSKI R, BRZÓZKA Z. Microfluidic devices as tools for mimicking the *in vivo* environment [J]. *New J Chem*, 2011, 35(5): 979.
- [4] BIRGERSDOTTER A, SANDBERG R, ERNBERG I. Gene expression perturbation *in vitro*: a growing case for three-dimensional (3D) culture systems [J]. *Semin Cancer Biol*, 2005, 15(5): 405-12.
- [5] AKHTAR A. The flaws and human harms of animal experimentation [J]. *Camb Q Healthc Ethics*, 2015, 24(4): 407-19.
- [6] SEOK J, WARREN H S, CUENCA A G, et al. Genomic responses in mouse models poorly mimic human inflammatory diseases [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, 110(9): 3507-12.
- [7] HENDERSON V C, KIMMELMAN J, FERGUSON D, et al. Threats to validity in the design and conduct of preclinical efficacy studies: a systematic review of guidelines for *in vivo* animal experiments [J]. *PLoS Med*, 2013, 10(7): e1001489.
- [8] FABRE K, BERRIDGE B, PROCTOR W R, et al. Introduction to a manuscript series on the characterization and use of microphysiological systems (MPS) in pharmaceutical safety and ADME applications [J]. *Lab Chip*, 2020, 20(6): 1049-57.
- [9] 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.
- [10] CLEVERS H. Modeling development and disease with organoids [J]. *Cell*, 2016, 165(7): 1586-97.
- [11] LANCASTER M A, KNOBLICH J A. Organogenesis in a dish: modeling development and disease using organoid technologies [J]. *Science*, 2014, 345(6194): 1247125.
- [12] DUTTA D, HEO I, CLEVERS H. Disease modeling in stem cell-derived 3D organoid systems [J]. *Trends Mol Med*, 2017, 23(5): 393-410.
- [13] WEEBER F, OOF T S N, DIJKSTRA K K, et al. Tumor organoids as a pre-clinical cancer model for drug discovery [J]. *Cell Chem Biol*, 2017, 24(9): 1092-100.
- [14] 王祥龙, 田雨闪, 陈欢, 等. 肺类器官的培养及应用研究[J]. *中国细胞生物学学报* (WANG X L, TIAN Y S, CHEN H, et al. Cultures and applications of lung organoids [J]. *Chinese Journal of Cell Biology*), 2022, 44(10): 2006-12.
- [15] 毕国赞, 张海燕. 肝脏类器官的构建及应用研究[J]. *中国细胞生物学学报* (BI G Y, ZHANG H Y. Study on the formation mechanism and application of liver organoids [J]. *Chinese Journal of Cell Biology*), 2022, 44(11): 2214-22.
- [16] 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): 262-5.
- [17] WANG X W, XIA T L, TANG H C, et al. Establishment of a patient-derived organoid model and living biobank for nasopharyngeal carcinoma [J]. *Ann Transl Med*, 2022, 10(9): 526.
- [18] GARRETA E, KAMM R D, CHUVA DE SOUSA LOPES S M, et al. Rethinking organoid technology through bioengineering [J]. *Nat Mater*, 2021, 20(2): 145-55.
- [19] BHATIA S N, INGBER D E. Microfluidic organs-on-chips [J]. *Nat Biotechnol*, 2014, 32(8): 760-72.
- [20] DEPREZ M, ZARAGOSI L E, TRUCHI M, et al. A single-cell atlas of the human healthy airways [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2020, 202(12): 1636-45.
- [21] VIEIRA B F, KAR G, BERG M, et al. A cellular census of human lungs identifies novel cell states in health and in asthma [J]. *Nat Med*, 2019, 25(7): 1153-63.
- [22] 汪涵, 邓鲤凌, 秦璇和. 基于小分子筛选的嗅上皮类器官培养体系的建立[J]. *生物工程学报* (WANG H, DENG L L, QIN X H. Development of an olfactory epithelial organoid culture system based on small molecule screening [J]. *Chinese Journal of Biotechnology*), 2023, 39(1): 318-36.
- [23] RAMEZANPOUR M, BOLT H, HON K, et al. Characterization of human nasal organoids from chronic rhinosinusitis patients [J]. *Biol Open*, 2022, 11(8): bio059267.
- [24] VAN DER VAART J, BÖTTINGER L, GEURTS M H, et al. Modelling of primary ciliary dyskinesia using patient-derived airway organoids [J]. *EMBO Rep*, 2021, 22(12): e52058.
- [25] LIU Z, ANDERSON J D, DENG L, et al. Human nasal epithelial organoids for therapeutic development in cystic fibrosis [J]. *Genes*, 2020, 11(6): 603.
- [26] LIU Z, ANDERSON J D, NATT J, et al. Culture and imaging of human nasal epithelial organoids [J]. *J Vis Exp*, 2021, doi: 10.3791/63064.
- [27] ANDERSON J D, LIU Z, ODOM L V, et al. CFTR function and clinical response to modulators parallel nasal epithelial organoid swelling [J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2021, 321(1): L119-L29.
- [28] GEURTS M H, POEL E D, AMATNGALIM G D, et al. CRISPR-based adenine editors correct nonsense mutations in a cystic fibrosis organoid biobank [J]. *Cell Stem Cell*, 2020, 26(4): 503-10.e7.
- [29] STEINBERG M S. Differential adhesion in morphogenesis: a modern view [J]. *Curr Opin Genet Dev*, 2007, 17(4): 281-6.
- [30] LIN R Z, CHOU L F, CHIEN C C, et al. Dynamic analysis of hepatoma spheroid formation: roles of E-cadherin and beta1-integrin [J]. *Cell Tissue Res*, 2006, 324(3): 411-22.
- [31] MARTIN J K, STEVENS E M, LARSEN L A, et al. Patient-specific three-dimensional explant spheroids derived from human

- nasal airway epithelium: a simple methodological approach for *ex vivo* studies of primary ciliary dyskinesia [J]. *Cilia*, 2017, 6: 3.
- [32] GUIMBELLOT J S, LEACH J M, CHAUDHRY I G, et al. Nasospheroids permit measurements of CFTR-dependent fluid transport [J]. *JCI Insight*, 2017, 2(22): e95734.
- [33] BALOGH S K, SIVARS U, HORNBERG E, et al. A 3D human airway model enables prediction of respiratory toxicity of inhaled drugs *in vitro* [J]. *Toxicol Sci*, 2018, 162(1): 301-8.
- [34] CHIU M C, LI C, LIU X J, et al. Human nasal organoids model SARS-CoV-2 upper respiratory infection and recapitulate the differential infectivity of emerging variants [J]. *mBio*, 2022, 13(4): e0194422.
- [35] FAIS F, JUSKEVICIENE R, FRANCARDO V, et al. Drug-free nasal spray as a barrier against SARS-CoV-2 and its delta variant: *in vitro* study of safety and efficacy in human nasal airway epithelia [J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(7): 4062.
- [36] RODENBURG L W, DELPIANO L, RAILEAN V, et al. Drug repurposing for cystic fibrosis: identification of drugs that induce CFTR-independent fluid secretion in nasal organoids [J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(20): 12657.
- [37] SHRESTHA J, RYAN S H, MILLS O, et al. A 3D-printed microfluidic platform for simulating the effects of CPAP on the nasal epithelium [J]. *Biofabrication*, 2021, doi: 10.1088/1758-5090/abe4c1.
- [38] WANG W, YAN Y, LI C W, et al. Live human nasal epithelial cells (hNECs) on chip for *in vitro* testing of gaseous formaldehyde toxicity via airway delivery [J]. *Lab Chip*, 2014, 14(4): 677-80.
- [39] BROOKS Z, KIM K, ZHAO K, et al. 3D printed transwell-integrated nose-on-chip model to evaluate effects of air flow-induced mechanical stresses on mucous secretion [J]. *Biomed Microdevices*, 2022, 24(1): 8.
- [40] LADEL S, FLAMM J, ZADEH A S, et al. Allogenic Fc domain-facilitated uptake of IgG in nasal *lamina propria*: friend or foe for intranasal CNS delivery [J]? *Pharmaceutics*, 2018, 10(3): 107.
- [41] CHIU S W, WANG J H, CHANG K H, et al. A fully integrated nose-on-a-chip for rapid diagnosis of ventilator-associated pneumonia [J]. *IEEE Trans Biomed Circuits Syst*, 2014, 8(6): 765-78.
- [42] GHOLIZADEH H, ONG H X, BRADBURY P, et al. Real-time quantitative monitoring of *in vitro* nasal drug delivery by a nasal epithelial mucosa-on-a-chip model [J]. *Expert Opin Drug Deliv*, 2021, 18(6): 803-18.
- [43] HENDRIKS D, ARTEGIANI B, HU H, et al. Establishment of human fetal hepatocyte organoids and CRISPR-Cas9-based gene knockin and knockout in organoid cultures from human liver [J]. *Nat Protoc*, 2021, 16(1): 182-217.
- [44] 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.
- [45] DEKKERS J F, VLIET E V, SACHS N, et al. Long-term culture, genetic manipulation and xenotransplantation of human normal and breast cancer organoids [J]. *Nat Protoc*, 2021, 16(4): 1936-65.