

· 类器官技术 ·



边黎明, 现任华南理工大学生物医学科学与工程学院副院长, 教授, 博士生导师, 教育部重要人才计划入选者, 国际生物材料科学与工程学会联合会“生物材料科学与工程会士”(FBSE)。于2009年在美国哥伦比亚大学获博士学位, 后在宾夕法尼亚大学进行博士后研究, 之后在香港中文大学任教, 2021年加入华南理工大学。致力于可应用于促进受损伤人体组织、器官修复与再生的新型水凝胶支架生物材料的研发。担任中国生物材料学会理事, 中国医学装备协会医用增材制造专业委员会委员, TERMIS-AP理事, 国际华人骨研协会理事等。主持国家自然科学基金委、科技部、香港研究资助局、香港创新科技署等多项科研项目。以通信或共通信作者身份在 *Sci Transl Med*、*Nat Commun*、*Sci Adv*、*JACS*、*Angew Chemie*、*Adv Mater* 等高质量国际期刊上发表学术论文130余篇。



张琨雨, 华南理工大学生物医学科学与工程学院副教授、博士生导师。2018年博士毕业于香港中文大学, 之后分别在新加坡南洋理工大学和美国约翰霍普金斯大学从事博士后研究, 2021年全职回国加入华南理工大学。主要研究方向包括仿生超分子水凝胶的设计制备, 实现细胞与类器官的三维培养, 促进脊髓等复杂组织损伤的再生修复。先后主持国家重点研发计划青年科学家项目、广东省自然科学基金杰出青年项目、国家自然科学基金面上项目等科研项目, 以通信/第一作者身份在 *Sci Transl Med*、*Nat Commun*、*Sci Adv*、*JACS*、*Adv Mater* 等国际顶尖期刊上发表论文32篇, 4篇论文(曾)入围“ESI高被引论文”。

化学成分明晰水凝胶: 推动类器官技术标准与临床转化的关键三维培养仿生基质

周遥[#] 高奕胜[#] 冯子凌[#] 张琨雨^{*} 边黎明^{*}

(华南理工大学生物医学科学与工程学院, 广州 511442)

摘要 类器官作为源自干细胞、具备自组织能力和多细胞异质性的三维微型组织模型, 已广泛应用于发育生物学、疾病模型、药物筛选和再生医学等领域。类器官的形成和维持高度依赖于其微环境, 其中三维培养基质材料在支持类器官结构稳定、信号转导和细胞行为调控中发挥关键作用。尽管基质胶(Matrigel)等天然基质被广泛采用, 但其成分复杂且批次间差异较大, 严重限制了类器官技术的可控性、重现性及临床转化。近年来, 化学成分明晰的合成水凝胶因其良好的可

收稿日期: 2025-06-13

接受日期: 2025-07-18

国家重点研发计划(批准号: 2024YFB3814900)资助的课题

[#]共同第一作者

^{*}通信作者。Tel: 020-81182189, E-mail: kyuzhang@scut.edu.cn; bianlm@scut.edu.cn

Received: June 13, 2025

Accepted: July 18, 2025

This work was supported by the National Key Research and Development Program of China (Grant No.2024YFB3814900)

[#]These authors contributed equally to this work

^{*}Corresponding authors. Tel: +86-20-81182189, E-mail: kyuzhang@scut.edu.cn; bianlm@scut.edu.cn

调控性、生物相容性和功能可修饰性,有望替代基质胶成为类器官培养的理想三维培养基质材料。该文综述了当前在类器官培养中应用的代表性化学成分明晰水凝胶类型,包括聚乙二醇、明胶、透明质酸等合成与半合成体系,系统讨论了其在机械性能调控、细胞-基质相互作用模拟、生物活性因子递送等方面的设计策略与优化方法,并进一步分析了不同水凝胶系统对肠道、脑、肝脏等类器官形成效率与表型维持的影响。最后,该文展望了该领域在高通量制备、多组分共培养、智能响应材料开发等方向的未来发展趋势,旨在为类器官技术的标准化构建与转化应用提供理论支持和材料基础。

关键词 类器官; 细胞外基质; 水凝胶; 化学成分明晰

Chemically Defined Hydrogels: the Key Biomimetic Matrix for Standardizing and Translating Organoid Technologies

ZHOU Yao[#], GAO Yisheng[#], FENG Ziling[#], ZHANG Kunyu^{*}, BIAN Liming^{*}

(School of Biomedical Sciences and Engineering, South China University of Technology, Guangzhou 511442, China)

Abstract Organoids, three-dimensional multicellular mini-tissues derived from stem cells with self-organizing capacity and cellular heterogeneity, have emerged as powerful platforms for developmental biology, disease modeling, drug screening, and regenerative medicine. The successful formation and long-term maintenance of organoids are critically dependent on the surrounding microenvironment, in which three-dimensional scaffold materials play essential roles in supporting structural integrity, regulating cell behavior, and mediating signal transduction. While natural matrices such as Matrigel remain widely used, their undefined composition and significant batch-to-batch variability severely limit the reproducibility, controllability, and clinical translation of organoid-based technologies. In recent years, chemically defined synthetic hydrogels have gained attention as promising alternatives due to their tunable properties, biocompatibility, and functional versatility. This review summarizes representative types of chemically defined hydrogels applied in organoid culture, including synthetic and semi-synthetic systems based on polyethylene glycol, gelatin, and hyaluronic acid. This article discusses key design strategies for modulating mechanical properties, mimicking cell-matrix interactions, and delivering bioactive cues. Furthermore, it highlights the impact of these hydrogels on organoid formation efficiency and phenotype maintenance across various organoid types, including intestinal, brain, and liver models. Finally, it outlines future perspectives on high-throughput fabrication, co-culture of multiple cell types, and the development of stimuli-responsive materials, aiming to provide theoretical and material foundations for the standardization and clinical translation of organoid technologies.

Keywords organoids; extracellular matrix; hydrogel; chemically defined

类器官(organoids)是由多能干细胞(pluripotent stem cells, PSCs)或成体干细胞在体外三维(three-dimensional, 3D)培养条件下,通过自组织形成的微型器官样结构。相较于传统二维细胞培养,类器官具备三大核心特征:包含源器官的多种细胞类型,再现源器官的空间组织结构,具备源器官的部分生理功能^[1-3]。这种“培养皿中的器官”能够在一定程度上模拟体内器官的发育、稳态和病理过程,为科学研究提供了极为宝贵的体外模型。类器官技术的雏形可

以追溯到20世纪初期的组织培养实验,WILSON^[4]的海绵细胞自组织实验首次证明单细胞可在体外重建复杂组织结构。现代类器官技术的突破性进展始于2009年,CLEVERS团队^[5]利用Lgr5⁺肠道干细胞成功培养出具有隐窝-绒毛结构的肠道类器官。此后十余年间,脑、肝、肾、肺等多种器官的类器官模型相继建立,极大地拓展了该技术的应用范围。

凭借其高度仿生性和功能性,类器官技术在基础研究与临床转化中展现出巨大潜力。在基础研究

领域,类器官模型为发育生物学和疾病机制研究提供了革命性工具。例如科研人员模拟了心脏发育早期与前肠的相互作用机制^[6],以及构建了用于先天性心脏病研究的单腔心脏类器官模型^[7]。在临床转化应用方面,类器官技术正在重塑再生医学和精准医疗的发展格局。患者来源的肿瘤类器官(patient-derived tumor organoids, PDTOs)已成功应用于药物敏感性测试和个体化治疗方案制定^[8];胆管癌患者源类器官库为癌症药物毒性评估和药效筛选提供了高效平台^[9],有望大幅提升新药研发效率并降低临床前研究成本。

然而,类器官的成功构建和功能模拟高度依赖于其培养环境,尤其是模拟体内细胞外基质(extracellular matrix, ECM)的三维微环境。ECM不仅为细胞提供物理支撑,更通过整合素等受体介导双向信号转导,调控细胞的黏附、增殖、迁移、分化及自组织等关键行为,对维持组织稳态和类器官形成至关重要^[10]。当前,基质胶如Matrigel®、BME(basement membrane extract)是类器官培养中最常用的ECM替代物。它是从EHS(Engelbreth-Holm-Swarm)小鼠肉瘤细胞中提取的基底膜蛋白混合物,主要包含层粘连蛋白、IV型胶原蛋白、巢蛋白及痕量生长因子等^[11-12]。然而,基质胶存在显著局限:其动物源性和复杂成分导致不可避免的批次间差异,严重影响实验可重复性与标准化^[13-14];难以精确调控关键物理特性(如硬度、黏弹性、降解速率)和生化特性(如配体类型、密度、时空分布);来源于小鼠肉瘤细胞,潜在的动物源成分(免疫原性、病原体污染)使其无法安全应用于人体组织修复等临床治疗。

为了克服基质胶等材料的局限性,化学成分明晰水凝胶(chemically defined hydrogels)作为一种具有前景的替代方案被提出并获得快速发展。这类材料由已知化学结构的单体或聚合物通过化学或物理交联形成,其组成、结构和物理特性均可精确控制和表征。相较于基质胶,化学成分明晰水凝胶在组分精确可控、物理特性可编程、批次稳定性高以及临床转化潜力大等方面展现出显著优势。

因此,本综述旨在系统评述化学成分明晰水凝胶在类器官培养领域的最新研究进展。我们将深入解析各类化学成分明晰水凝胶的材料特性,阐明其物理化学性质与类器官培养效能的构效关系;全面

总结适用于类器官培养的水凝胶设计关键原则,包括机械性能动态调控策略和生化功能化修饰方法;并针对类器官培养中的关键瓶颈问题,探讨化学成分明晰水凝胶的创新解决方案及其临床转化潜力。通过整合前沿研究成果,本综述期望为研究者提供系统的理论框架和实用技术指导,推动类器官培养体系的标准化与精准化,加速类器官技术从基础研究向临床应用的转化。

1 细胞外基质、传统基质局限与化学成分明晰水凝胶的兴起

1.1 细胞外基质在类器官培养中的核心作用

细胞外基质(ECM)是一种高度动态的三维大分子网络,主要由胶原蛋白、蛋白多糖、弹性蛋白、纤连蛋白、层粘连蛋白及其他多种糖蛋白构成。这些成分相互结合,并与细胞表面的黏附受体相互作用,形成复杂的细胞微环境^[15]。在类器官培养中,ECM扮演着至关重要的角色。它不仅为细胞提供物理支撑,还通过整合素等细胞表面受体与细胞进行双向信号转导,精确调控细胞的黏附、增殖、迁移、分化及自组织等关键行为^[10,16]。ECM提供的物理支撑(如拓扑结构、空间约束、力学刚度及黏弹性)和生化信号(如特定配体、生长因子)共同构成了一个高度动态的微环境,从而调节细胞的存活、生长、迁移和分化,对于维持组织稳态、促进类器官形成和发挥功能至关重要。因此,模拟体内ECM的理化特性和生物学功能是构建高质量类器官模型的核心挑战。

1.2 传统基质的局限性

目前,基质胶是类器官培养中最广泛使用的ECM模拟物,来源于EHS小鼠肉瘤细胞中,其组成与天然基底膜类似,主要包含层粘连蛋白(约60%)、IV型胶原蛋白(约30%)、巢蛋白(约8%)以及痕量的生长因子和其他蛋白^[11-12]。尽管其应用广泛,基质胶在类器官研究和应用中存在多方面的显著局限性^[11]。首先,其成分复杂与批次差异。基质胶的动物源性及其固有的复杂混合物性质导致不同生产批次间存在不可避免的成分和活性差异,这严重影响了实验结果的可靠性和可重复性,阻碍了类器官培养的标准化进程^[13-14]。其次,基质胶的理化性质调控受限。其固有的组成和凝胶特性使得研究者难以根据特定类器官或研究需求,精确调控关键的物理参数(如基

质的刚度、黏弹性、降解动力学)和生化参数(如特定黏附配体或信号因子的类型、密度及其在三维空间中的分布)。这种调控能力的缺乏限制了研究者深入探究微环境因素如何影响类器官发育和功能的机制研究。最后,基质胶存在潜在的安全风险。其来源于小鼠肿瘤组织,含有异种动物源成分,可能导致免疫原性反应或存在病原体污染的风险。这些安全隐患使其难以满足临床应用(如基于类器官的再生医学和组织移植)对生物材料安全性的严格要求。

1.3 化学成分明晰水凝胶的定义、分类与核心优势

化学成分明晰水凝胶是指由已知确切化学结构的单体或聚合物,借助化学(如点击化学、光聚合)或物理(如氢键、疏水作用、离子交联)交联形成的具有三维网络结构的材料。其特征在于所有组成成分的分子结构、比例以及最终材料的物理化学性质(如交联密度、孔径、力学性能)均可被精确设计、控制、表征和重复生产。根据原料来源,化学成分明晰水凝胶可分为合成聚合物水凝胶、天然衍生水凝胶、杂化水凝胶三大类。其中,基于聚乙二醇(polyethylene glycol, PEG)、聚丙烯酰胺(polyacrylamide, PAAm)、聚*N*-异丙基丙烯酰胺(poly *N*-isopropylacrylamide, PNIPAAm)等聚合物的合成水凝胶,其优势在于化学结构高度可设计,物理性能(如模量、降解性)可精确调控;天然衍生但成分明晰水凝胶,例如使用重组表达技术获得的结构和功能明确的纤连蛋白或层粘连蛋白片段构建的水凝胶,或者经过高度纯化、成分明确的天然高分子(如藻酸盐、透明质酸、胶原蛋白)制备的水凝胶,这类材料通常兼具天然ECM组分的生物活性和合成材料良好的可控性;杂化水凝胶旨在融合合成聚合物与天然生物分子的优势,通过将两者结合(物理混合或化学偶联)形成性能更优的复合材料。

与传统基质相比,化学成分明晰水凝胶展现出多方面的核心优势。①组分精确可控:所有化学成分均具有明确的分子结构和功能特征,研究人员能够精确调控特定配体(如RGD细胞黏附肽)的类型、密度和空间分布;②物理特性可编程:研究人员可独立地、系统地调控弹性模量、黏弹性、溶胀比、孔隙率以及降解动力学等多个关键参数,从而模拟不同组织或发育阶段的力学微环境,并研究力学线索对类器官的调控作用;③批次稳定性:基于标准化的化学合成或重组生产工艺,其能够确保不同批次

水凝胶产品在组成和理化性质上保持高度一致,极大提高了类器官实验的可重复性和数据可靠性;④临床转化潜力大:这类材料规避了动物源性成分带来的免疫原性和病原体污染风险,其生产过程更容易符合药品生产质量管理规范(GMP)要求,安全性显著提高,为类器官技术在再生医学、细胞治疗和个体化医疗等临床领域的应用扫除了关键的材料障碍。这些特性使化学成分明晰水凝胶不仅能有效克服传统基质胶的主要局限,更为推动类器官研究的标准化、机制研究的深入化以及最终的临床应用开辟了新的途径^[7]。

2 化学成分明晰水凝胶的特性与构建策略

为了实现其在类器官培养中的有效应用,化学成分明晰水凝胶需要满足一系列关键的物理、化学和生物学特性要求。深入理解这些要求,并掌握不同材料体系及其构建与功能化策略,是设计和优化适用于特定类器官培养的水凝胶支架的基础。

2.1 支持类器官发育的核心材料特性要求

在类器官培养中,化学成分明晰水凝胶应满足生物相容性、可调的机械性能、可控降解动力学、生物功能化能力及操作稳定性等要求,从而有效支撑类器官的存活、增殖、分化和自组织过程,模拟体内微环境的复杂需求。①生物相容性:水凝胶必须无毒,能够维持类器官细胞的长期存活、增殖和迁移。②可调的物理机械性能:由于不同组织之间的机械性能具有显著差异,水凝胶的弹性模量、黏弹性及溶胀性等物理参数需能精确调控,以精准匹配目标组织的力学微环境。③降解动力学:可控的降解性可为类器官培养提供空间,维持适宜的机械微环境。因此,水凝胶的交联网络需与组织生长同步重塑。④生物功能化能力:类器官发育不仅需要物理线索的指导,也需要多种生长因子和生物活性分子的联合调控。因此,化学成分明晰水凝胶需具备整合和精确呈现生物活性分子的能力。⑤可加工性与长期稳定性:鉴于许多类器官的分化成熟周期较长(数周至数月),水凝胶需在培养过程中提供稳定的理化微环境。

2.2 主要的化学成分明晰水凝胶体系

根据其核心成分来源和性质,现有的化学成分明晰水凝胶主要可分为合成聚合物水凝胶、天然衍生水凝胶和杂化水凝胶。常见的合成聚合物以聚乙

二醇(PEG)、聚丙烯酰胺(PAAm)、聚*N*-异丙基丙烯酰胺(PNIPAAm)、聚丙烯酸(polyacrylic acid, PAA)等为代表^[18]。这类材料的核心优势在于其成分纯净、批次间一致性高、化学结构可设计。研究人员可以通过精确调节单体浓度、聚合物分子量或交联密度等参数,系统性地改变水凝胶的弹性模量、黏弹性、溶胀性和降解行为等物理化学性能。例如,PEG水凝胶作为常用模型体系,具有良好的生物相容性和稳定性,其刚度可通过改变PEG分子量或浓度进行便捷调控;但PEG本身不含细胞识别位点,通常需要额外修饰RGD等黏附肽以支持细胞附着。通过调节单体浓度,PAAm凝胶也可提供很宽的刚度调节范围,但其单体具有毒性,需要彻底去除残留单体,且PAAm本身通常缺乏生物降解机制。PNIPAAm水凝胶具有独特的温度响应性,可实现温度触发的可逆凝胶化,便于细胞装载与释放,但同样需要引入生物活性配体使用^[19]。PAA等阴离子聚合物具有良好的溶胀性和pH响应性,有助于增强水凝胶的渗透性,但在类器官培养中应用报道相对较少^[20]。总体而言,合成体系的优势在于精确可控的物理化学性质和优异的批次一致性,其局限性主要在于固有的生物惰性(需功能化修饰)以及部分体系的生物相容性或生物降解性挑战。

天然衍生水凝胶由高度纯化或基因工程改造的天然生物大分子(蛋白质或多糖)组成,旨在保持天然材料的生物活性同时提高成分的明确性和可控性。例如,重组蛋白水凝胶[如重组胶原、弹性蛋白样多肽(elastin-like polypeptide, ELP)等]可以通过基因工程表达获得,其氨基酸序列可被精确设计,同时引入细胞黏附位点或交联基团等,从而形成具有可调力学性能和生物活性的支架^[21]。明胶是胶原的水解产物,天然富含RGD(Arg-Gly-Asp)等细胞黏附序列,具有良好的细胞相容性。通过对其进行化学修饰,如甲基丙烯酰化得到GelMA, GelMA被赋予光交联能力,并被用于多种类器官的培养。进一步的研究如BIAN等^[22]通过 β -环糊精(β -cyclodextrin, β -CD)与明胶芳香残基之间的主-客体超分子相互作用,开发了具有动态适应性的Gel-CD水凝胶,其高度动态的交联网络特性被证明能支持胚胎干细胞在三维培养中的长期增殖与干性维持。透明质酸(hyaluronic acid, HA)是ECM中的重要糖胺聚糖,具有良好的生物相容性和促进细胞迁移的能力,可通过化学改性

(如引入甲基丙烯酰基团等)实现光交联。HA还可与温敏聚合物复合构建功能材料,例如报道的HA-PNIPAAm水凝胶在37 °C形成凝胶,降温时液化,为类器官培养和温和回收提供了可逆的环境^[19]。与此同时,BIAN等^[23]基于主-客体相互作用,将叔丁基苯修饰的透明质酸(hyaluronic acid modified with *p*-tert-butylphenyl acetate, HA-TP)与 β -CD络合,形成超分子动态水凝胶。这种高动态交联网络可显著加速间充质干细胞在三维环境中的增殖与成团生长,促进软骨类器官的发育。天然衍生体系的主要优势在于其固有的生物活性(如天然细胞黏附位点、生长因子结合域、酶降解位点),通常能提供更好的细胞相容性和功能支持。其主要挑战在于:非重组来源的天然高分子(如传统提取的胶原、明胶、HA)可能仍存在纯度问题,其力学性能的调控范围有时相对受限,重组蛋白的成本可能较高,某些材料的可加工性(如流变性能)可能需要优化。

杂化水凝胶旨在融合合成聚合物与天然生物分子的优势,通过将两者结合(物理混合或化学偶联)形成性能更优的复合材料。YE等^[24]将热敏合成聚合物聚异氰基肽(polyisocyanopeptide, PIC)与重组层粘连蛋白组合,制备出杂化水凝胶支架用于肝类器官培养。其他策略包括将天然ECM蛋白(如胶原蛋白、纤连蛋白、层粘连蛋白等)共价接枝于PEG网络,这些策略成功支持了诱导多能干细胞来源肝类器官的生长^[25]。杂化策略的核心价值在于能够根据特定类器官的需求,定制化地平衡生物活性、力学性能、降解行为和加工特性,为克服单一材料体系的局限提供了有效途径。

2.3 化学成分明晰水凝胶的制备与功能化策略

构建化学成分明晰水凝胶三维网络结构依赖于多种交联方式,这些方式决定了凝胶的成型机制、理化性质(如凝胶速度、力学强度、稳定性)以及对细胞的影响。主要可分为化学交联和物理交联两大类。

化学共价交联通常通过形成不可逆的共价键构建稳定的网络。其中,自由基聚合利用紫外光(UV)或可见光(常配合光引发剂如Irgacure 2959或LAP)引发含可聚合基团(如丙烯酸酯、甲基丙烯酸酯)的单体或聚合物(如PEGDA、GelMA)发生链式反应形成交联网络。点击化学利用高效、高选择性且常为生物正交(对生物分子干扰小)的反应进行交

联,例如叠氮-炔环加成反应(strain-promoted azide-alkyne cycloaddition, SPAAC)、硫醇-烯/炔点击反应(thiol-ene/yne click chemistry)、迈克尔加成反应(如马来酰亚胺与巯基反应)等。这些反应条件通常温和,副产物少。此外,缩合反应常用于蛋白质或多糖之间的交联或功能化,例如利用碳二亚胺(如EDC)和*N*-羟基琥珀酰亚胺(*N*-hydroxysuccinimide, NHS)活化羧基,进而与氨基反应形成稳定的酰胺键。

物理交联通常通过非共价相互作用形成可逆或动态的网络。例如,离子交联通过多价离子与带电荷聚合物链间的静电作用形成网络,如海藻酸钠溶液与钙离子(Ca^{2+})接触后快速形成“蛋盒”结构凝胶。此外,通过主-客体相互作用,如上文提到的环糊精(主体)与金刚烷(客体)之间的特异性包合作用(如Gel-CD、HA-ADA/CD体系),可形成具有动态网络特性的超分子水凝胶。而热致凝胶利用聚合物对温度的响应性实现溶胶-凝胶转变,例如PNIPAAm在温度高于其LCST时发生疏水聚集形成凝胶。研究人员需根据目标水凝胶的材料组成、所需的凝胶动力学(如快速注射成型vs温和混合成型)、最终力学性能要求、对细胞活性的影响以及后续应用(如是否需降解回收)来选择合适的交联策略^[26-28]。

在此基础上,生物功能化是赋予化学成分明晰水凝胶特定生物学功能、精确模拟体内复杂的信号微环境的关键。核心策略包括以下几个方面。①共价偶联:利用前述的高效化学反应(如点击化学、EDC/NHS缩合、马来酰亚胺-巯基反应),将生物活性分子(如黏附肽、生长因子、酶敏感肽段)共价锚定于网络主链或侧链,实现稳定固定与可控呈现。②亲和捕获:在凝胶网络中引入高亲和力分子(如肝素、特异性结合肽或抗体片段),通过生物特异性相互作用捕获并缓释信号分子,从而在局部建立和维持所需的生物活性因子浓度。③空间图案化:结合光刻(如双光子)、微流控或3D打印技术,精确调控生物活性分子(如黏附配体)在水凝胶内部或表面的空间分布,创造异质性微环境,引导类器官的极性建立、区域分化及形态发生。这些功能化策略超越了传统基质胶的模糊信号背景,使研究人员能在化学成分明晰的水凝胶平台上精确操控生物化学信号,为深入研究微环境调控类器官发育及构建更仿生的类器官模型提供了强大工具^[29]。

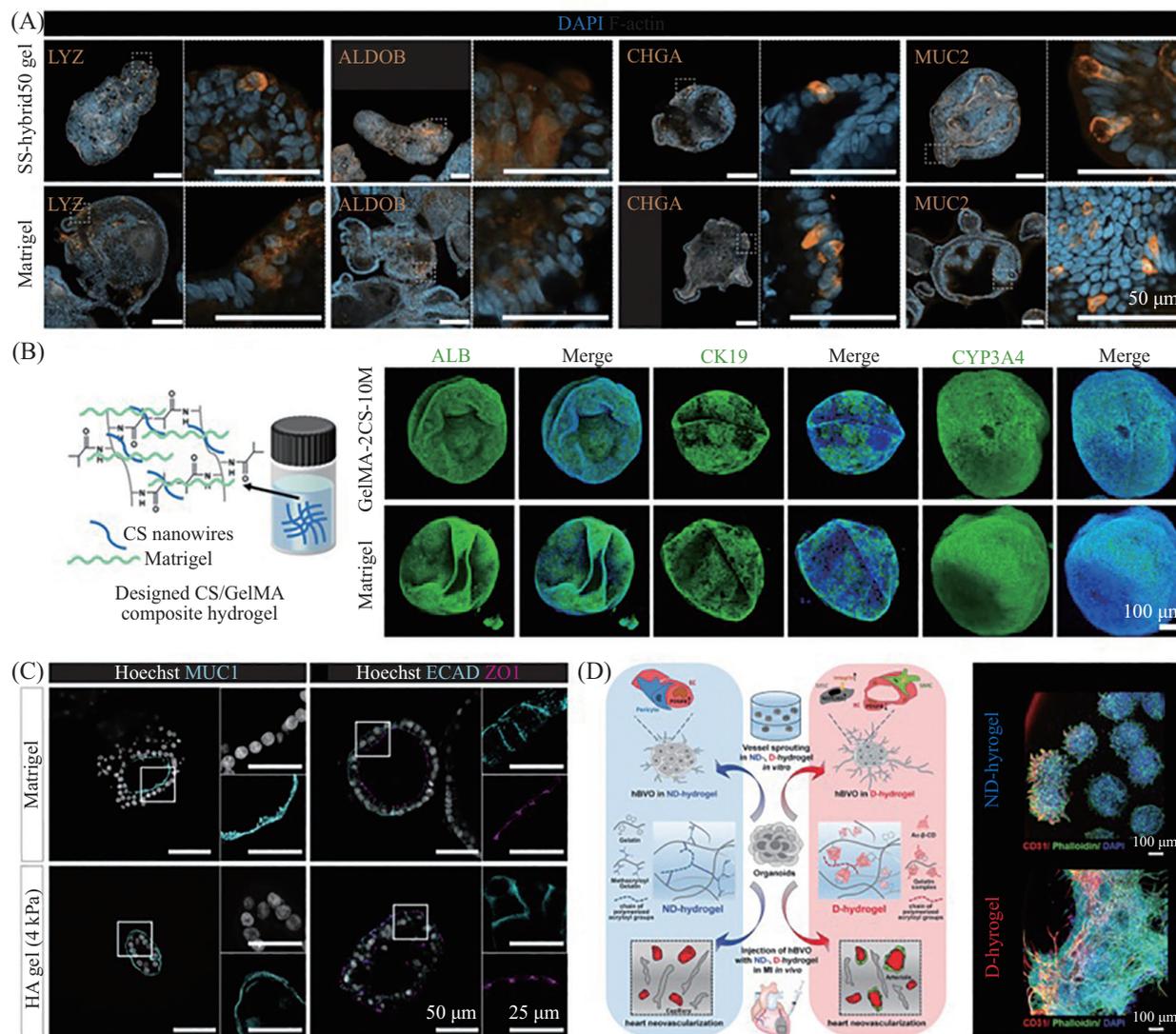
3 化学成分明晰水凝胶在类器官培养中的应用

化学成分明晰水凝胶的核心价值在于其能够克服传统基质胶的固有局限,为类器官提供物理化学性质高度可控、生物活性可精准设计的体外微环境。本部分将系统阐述化学成分明晰水凝胶在几种代表性器官类器官(小肠、肺、肝脏、血管)培养中的关键作用与最新研究进展,展示其如何通过微环境编程推动特定类器官模型的发展。

在当前类器官相关研究中,评估其结构与功能维持的常用指标主要包括类器官形成效率、平均尺寸、生长速率、存活率及内部细胞活力等表征物理维度的参数;同时,还常结合组织特异性标志物的表达水平、组织结构(如腔体形成、极性建立)、功能性分泌物(如白蛋白、尿素、激素)检测及基因表达谱等方式,综合判断类器官是否具备相应组织的结构与功能特征。这些定量与定性指标共同构成了评价类器官质量和稳定性的重要基础,在材料优化及应用验证中具有指导意义。

3.1 肠道类器官

肠道类器官是研究肠道发育、稳态、疾病机制和药物吸收的重要模型,针对其培养环境的需求,研究者已开发出多种水凝胶体系。例如,LUTOLF等^[30]创新性地利用可逆氢键作用,开发了基于PEG的动态合成水凝胶体系,有效解决了传统Matrigel的批次差异和免疫原性问题,并揭示了应力松弛效应对肠隐窝形态发生的核心作用。该体系以功能化PEG(mPEG-胞嘧啶或8-PEG-胞嘧啶)为骨架,通过胞嘧啶间的三重氢键实现材料在数秒级($\tau_{\text{relax}} \approx 20\sim 30$ s)内快速松弛,使隐窝在增殖阶段产生的内应力得以耗散,促进对称断裂和芽状突起的形成,同时通过YAP/TAZ核转位驱动Paneth细胞的分化。通过进一步整合细胞黏附位点(RGD肽段)和可控降解位点(Sortase-A识别位点),该动态水凝胶支持了肠类器官的长期培养和多代传代,使细胞保持了良好的形态和分化能力,且显著降低了实验变异性(图1A)。CURVELLO等^[31]设计了一种基于植物纳米纤维素的水凝胶,通过0.1%纤维素纳米纤维的离子交联形成三维网状支撑基质。该体系力学性能与传统动物基质相当,并采用无盐渗透压调控策略为细胞提供良好的生存条件。在小鼠小肠类器官培养中,纤维素水凝胶不仅支持类器官从隐窝发展为囊泡并最



A: 基于共价键和氢键形成的动态水凝胶支持小鼠肠道干细胞衍生的单细胞类器官形成; B: CS/GelMA复合水凝胶支持肝类器官的培养; C: 基于HA的水凝胶有效支持肺类器官的生长与特异性标志物的表达; D: 基于明胶-环糊精的主-客体水凝胶支持血管类器官的培养。

A: dynamic hydrogels based on covalent and hydrogen bonds supported the formation of single-cell organoids derived from mouse intestinal stem cells; B: CS/GelMA composite hydrogels supported the culture of liver organoids; C: HA-based hydrogels effectively supported the growth of lung organoids and the expression of specific markers; D: gelatin/cyclodextrin-based host-guest hydrogels supported the culture of vascular organoids.

图1 基于化学成分明晰水凝胶培养的不同器官(根据参考文献[30,34,36,38]修改)

Fig.1 Various organoids cultured in chemically defined hydrogels (modified from references [30,34,36,38])

终形成分支结构, 还通过在基质表面共价修饰纤连蛋白衍生RGD肽, 激活 $\beta 1$ -integrin-MAPK通路, 增加FAK-pERK水平, 从而显著提高杯状细胞与内分泌细胞的分化比例。该体系可在无动物成分条件下实现10代以上的稳定传代, 并且转录组分析显示谱系特征与Matrigel培养高度一致。

3.2 肝脏类器官

肝脏类器官在模拟肝脏发育、代谢、毒性反应、疾病(如脂肪肝、肝炎、肝癌)及药物筛选方面具有巨大潜力。化学成分明晰水凝胶通过提供稳

定、可编程且功能化的微环境, 正在推动肝类器官研究走向深入和临床应用。SPEE等^[32]应用纤维素纳米纤维水凝胶进行了肝类器官的培养, 发现了纳米纤维素中培养的肝类器官在代谢活性上与基质胶中没有差异, 并且在前者产生的谷丙转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)、谷草转氨酶(aspartate aminotransferase, AST)活性和白蛋白的量均高于后者, 说明了其在促进肝类器官分化方面的表现与基质胶相当甚至更优。SCHNEEBERGER等^[24]将热敏合成聚合物聚异氰基肽(polyisocyanopeptide, PIC)与

层粘连蛋白-111结合,开发了PIC-LM111杂化水凝胶,能够有效支持细胞分化为具有功能的肝脏类器官;该水凝胶不但硬度可调,可以给予肝类器官最佳的物理支撑,并且具有出色的热可逆性,即在冷却之后可重新恢复液态,使其在类器官传代过程中更易于操作。LUTOLF等^[33]则利用合成PEG多聚体,通过整合关键ECM蛋白(层粘连蛋白-111、IV型胶原等)或其功能性肽段(如RGDSP)构建功能化PEG水凝胶,成功获得与Matrigel相当的支持肝祖细胞增殖和类器官形成的效果。值得注意的是,PEG-RGD水凝胶能提供比基质胶更长期稳定的机械支撑,避免了基质胶因软化导致的类器官结构恶化。同时,该研究证实了在响应不同物理刺激的过程中,整合蛋白/SFK/YAP信号通路对调节肝祖细胞的增殖起到了重要作用。

功能化复合水凝胶也被设计用于增强肝类器官的成熟度和功能。WU等^[34]开发了含硅酸钙(calcium silicate, CS)纳米线和甲基丙烯酸酯明胶(GelMA)的CS/GelMA复合水凝胶,并证明了CS纳米线释放的Ca²⁺和SiO₄⁴⁻离子能激活Wnt/ β -连环蛋白信号通路,促进肝类器官的代谢活性、生长和功能成熟(图1B)。SCHNEEBERGER等^[35]探索了基于降冰片烯修饰的糖胺聚糖(右旋糖苷DexNB或硫酸软骨素CSNB)与巯基化明胶(GelSH)通过硫醇-烯点击反应形成的杂化水凝胶。这两种新型水凝胶,特别是CSNB-GelSH,在促进肝内胆管细胞类器官向功能性肝细胞分化方面表现优异,其效果甚至超过了Matrigel、PIC-LM111和GelMA。

3.3 肺类器官

肺类器官,特别是基于诱导多能干细胞(induced pluripotent stem cell, iPSC)衍生的肺泡II型(alveolar epithelial type 2, AT2)类器官,为研究肺部发育、稳态、疾病及药物反应提供了关键模型。化学成分明晰水凝胶的应用正助力构建更精准可控的肺微环境。近期,LOEBEL等^[36]开发了一种基于HA的新型化学成分明晰水凝胶用于肺类器官培养(图1C)。该水凝胶以降冰片烯修饰的HA为骨架,通过降冰片烯基团与二硫醇之间的硫醇-烯点击反应进行交联,并可利用硫醇基团进行功能化修饰(如引入细胞黏附配体RGD)。研究人员通过精准调控水凝胶的力学模量,成功优化了肺类器官的大小和细胞密度,有效支持了肺类器官的生长与特异性标志物的表达。该

研究的另一重要贡献在于,利用这种合成水凝胶体系,能够将外源性添加的ECM成分与类器官自身新生分泌的ECM进行有效解耦,为揭示ECM在肺类器官形态发生和功能维持中的具体作用机制提供了独特的研究工具。

3.4 血管类器官

血管系统对于人体所有组织的正常发育和功能至关重要,血管功能障碍是多种致残和危及生命的疾病的基础^[37]。近年来,血管类器官(human blood vessel organoids, hBVOs)作为一种创新的三维体外模型系统,在模拟人类血管发育过程和血管相关疾病研究方面展现出显著优势。ZHU和BIAN团队^[38]开发了一种创新的基于主-客体相互作用的动态黏弹性水凝胶用于hBVO的培养,并在心肌梗死治疗中验证了其治疗效果(图1D)。该水凝胶利用主体分子丙烯酰胺- β -环糊精(acrylamide- β -cyclodextrin, Ac- β -CD)与客体分子明胶之间的疏水相互作用形成预组装结构,最终在蓝光交联下形成具有ECM仿生特性的动态网络。该研究的核心突破在于阐明了水凝胶的动态应力松弛特性在hBVO分化中的关键作用。结果显示,具有适宜应力松弛速率的黏弹性水凝胶能更真实地模拟体内血管周围基质,从而最有利于hBVO向功能性小动脉分化。在心肌梗死模型中,由这种化学成分明确水凝胶培养的hBVO移植后也展现出显著增强的血管生成能力,能有效促进缺血心肌区域的血管新生和血流重建,凸显了其在再生医学中的转化价值。这一工作不仅为血管类器官研究提供了优异的材料替代方案,更深刻揭示了力学微环境在血管发育和再生中的核心机制。

3.5 血管化类器官

血管系统在类器官构建中发挥着至关重要的作用。有效的血管化不仅可以避免类器官中心因缺氧发生坏死,还能支持其生长至更大体积,从而提高其在发育研究、疾病模拟和新药开发中的生理相关性和准确性,同时增强类器官在体内植入后的存活与功能维持能力^[39]。SU等^[40]构建了一种具有时空分级特征的水凝胶系统,将封装间充质/内皮细胞和二甲基草酰甘氨酸(dimethyl oxalylglycine, DMOG)的GelMA基质,与负载纳米羟基磷灰石(nano-hydroxyapatite, nHAp)的丝素蛋白微球结合,利用差异降解动力学与DMOG同步释放,诱导血管前体网络的形成,从而实现代谢支持和骨类器官的功能性血管化。

WANG等^[41]基于GelMA水凝胶, 结合3D生物打印技术构建了血管化的小叶状肝类器官, 其在体外实验中表现出了良好的类器官内部细胞活力、氧气摄取能力及白蛋白和尿素的分泌功能。但需指出, 该系统在构建过程中仍使用了一定比例的Matrigel, 表明了当前完全依赖化学成分明晰水凝胶实现高效血管化仍具挑战。

4 总结与展望

化学成分明晰水凝胶因其可控组成、一致性强、生物相容性好及物理化学性能可编程等优势, 正在成为替代天然基质以及构建高质量类器官微环境的重要支撑。然而, 当前体系在模拟复杂细胞外基质结构、实现动态响应与长期稳定性的平衡、满足临床及规模化制备等方面仍面临挑战, 尤其在支持血管化、神经化及免疫参与的高度复杂类器官构建中能力有限。

未来发展将聚焦功能集成与应用场景匹配。通过引入对光、热、pH、力学等信号响应的智能模块, 结合3D生物打印与微流控芯片等先进技术, 水凝胶可实现微环境的动态调控、多区异质性构建与实时监测, 提升类器官的生理相关性和实验通量。此外, 水凝胶还可作为多器官芯片系统(organ-on-a-chip)的关键连接材料, 实现不同类器官模型间的功能整合与互作模拟; 同时, 其标准化和可调性特征也使其成为搭建类器官高通量药物筛选平台和多细胞共培养系统的理想载体, 更好契合精准医学和转化医学的发展需求。

综上, 化学成分明晰水凝胶不仅为类器官提供理想培养基质, 更在推动其标准化、功能化与临床转化中发挥关键作用。随着材料科学与生命工程的不断融合, 该类水凝胶将在基础研究、疾病建模、药物开发及个性化医疗等领域展现广阔应用前景。

参考文献 (References)

- [1] CHILDS C J, EIKEN M K, SPENCE J R. Approaches to benchmark and characterize *in vitro* human model systems [J]. *Development*, 2022, 149(20): dev200641.
- [2] FRUM T, SPENCE J R. hPSC-derived organoids: models of human development and disease [J]. *J Mol Med*, 2021, 99(4): 463-73.
- [3] CLEVERS H. Modeling development and disease with organoids [J]. *Cell*, 2016, 165(7): 1586-97.
- [4] WILSON H. A new method by which sponges may be artificially reared [J]. *Science*, 1907, 25(649): 912-5.
- [5] SATO T, VAN ES J H, SNIPPET H J, et al. Paneth cells constitute the niche for Lgr5 stem cells in intestinal crypts [J]. *Nature*, 2011, 469(7330): 415-8.
- [6] DRAKHLIS L, BISWANATH S, FARR C M, et al. Human heart-forming organoids recapitulate early heart and foregut development [J]. *Nat Biotechnol*, 2021, 39(6): 737-46.
- [7] HOFBAUER P, JAHNEL S M, PAPAÏ N, et al. Cardioids reveal self-organizing principles of human cardiogenesis [J]. *Cell*, 2021, 184(12): 3299-317, e22.
- [8] DONG H, LI Z, BIAN S, et al. Culture of patient-derived multicellular clusters in suspended hydrogel capsules for pre-clinical personalized drug screening [J]. *Bioact Mater*, 2022, 18: 164-77.
- [9] REN X, HUANG M, WENG W, et al. Personalized drug screening in patient-derived organoids of biliary tract cancer and its clinical application [J]. *Cell Rep Med*, 2023, 4(11): 101277.
- [10] SARASWATHIBHATLA A, INDANA D, CHAUDHURI O. Cell-extracellular matrix mechanotransduction in 3D [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2023, 24(7): 495-516.
- [11] ZHAO Z, CHEN X, DOWBAJ A M, et al. Organoids [J]. *Nat Rev Methods Primers*, 2022, 2: 94.
- [12] PENG H, POOVAIAH N, FORRESTER M, et al. *Ex vivo* culture of primary intestinal stem cells in collagen gels and foams [J]. *ACS Biomater Sci Eng*, 2015, 1(1): 37-42.
- [13] KOHEN N T, LITTLE L E, HEALY K E. Characterization of Matrigel interfaces during defined human embryonic stem cell culture [J]. *Biointerphases*, 2009, 4(4): 69-79.
- [14] TALBOT N C, CAPERNA T J. Proteome array identification of bioactive soluble proteins/peptides in Matrigel: relevance to stem cell responses [J]. *Cytotechnology*, 2015, 67(5): 873-83.
- [15] THEOCHARIS A D, SKANDALIS S S, GIALELI C, et al. Extracellular matrix structure [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2016, 97: 4-27.
- [16] ROSALES A M, ANSETH K S. The design of reversible hydrogels to capture extracellular matrix dynamics [J]. *Nat Rev Mater*, 2016, 1: 15012.
- [17] KRATOCHVIL M J, SEYMOUR A J, LI T L, et al. Engineered materials for organoid systems [J]. *Nat Rev Mater*, 2019, 4(9): 606-22.
- [18] NEZHAD-MOKHTARI P, GHORBANI M, ROSHANGAR L, et al. A review on the construction of hydrogel scaffolds by various chemically techniques for tissue engineering [J]. *Eur Polym J*, 2019, 117: 64-76.
- [19] EKERDT B L, FUENTES C M, LEI Y, et al. Thermoreversible hyaluronic acid-PNIPAAm hydrogel systems for 3D stem cell culture [J]. *Adv Healthc Mater*, 2018, 7(12): e1800225.
- [20] AGARWAL T, CELIKKIN N, COSTANTINI M, et al. Recent advances in chemically defined and tunable hydrogel platforms for organoid culture [J]. *Biodes Manuf*, 2021, 4(3): 641-74.
- [21] LIM D W, NETTLES D L, SETTON L A, et al. *In situ* cross-linking of elastin-like polypeptide block copolymers for tissue repair [J]. *Biomacromolecules*, 2008, 9(1): 222-30.
- [22] XU X, FENG Q, MA X, et al. Dynamic gelatin-based hydrogels promote the proliferation and self-renewal of embryonic stem cells in long-term 3D culture [J]. *Biomaterials*, 2022, 289: 121802.
- [23] YANG B, LI Z, YANG Z, et al. Recapitulating hypoxic metabolism in cartilaginous organoids via adaptive cell-matrix interaction [J]. *Science*, 2017, 355(6322): 1032-36.

- tions enhances histone lactylation and cartilage regeneration [J]. *Nat Commun*, 2025, 16(1): 2711.
- [24] YE S, BOETER J W B, MIHAJLOVIC M, et al. A chemically defined hydrogel for human liver organoid culture [J]. *Adv Funct Mater*, 2020, 30(48): 2000893.
- [25] NG S S, SAEB-PARSY K, BLACKFORD S J I, et al. Human iPS derived progenitors bioengineered into liver organoids using an inverted colloidal crystal poly (ethylene glycol) scaffold [J]. *Biomaterials*, 2018, 182: 299-311.
- [26] LI Z, LU F, LIU Y. A review of the mechanism, properties, and applications of hydrogels prepared by enzymatic cross-linking [J]. *J Agric Food Chem*, 2023, 71(27): 10238-49.
- [27] AKHTAR M F, HANIF M, RANJHA N M. Methods of synthesis of hydrogels...A review [J]. *Saudi Pharm J*, 2016, 24(5): 554-9.
- [28] MADDOCK R M A, POLLARD G J, MOREAU N G, et al. Enzyme-catalysed polymer cross-linking: biocatalytic tools for chemical biology, materials science and beyond [J]. *Biopolymers*, 2020, 111(9): e23390.
- [29] GAN Z, QIN X, LIU H, et al. Recent advances in defined hydrogels in organoid research [J]. *Bioact Mater*, 2023, 28: 386-401.
- [30] CHRISNANDY A, BLONDEL D, REZAKHANI S, et al. Synthetic dynamic hydrogels promote degradation-independent in vitro organogenesis [J]. *Nat Mater*, 2022, 21(4): 479-87.
- [31] CURVELLO R, KERR G, MICATI D J, et al. Engineered plant-based nanocellulose hydrogel for small intestinal organoid growth [J]. *Adv Sci*, 2020, 8(1): 2002135.
- [32] KRÜGER M, OOSTERHOFF L A, VAN WOLFEREN M E, et al. Cellulose nanofibril hydrogel promotes hepatic differentiation of human liver organoids [J]. *Adv Healthc Mater*, 2020, 9(6): e1901658.
- [33] SORRENTINO G, REZAKHANI S, YILDIZ E, et al. Mechano-modulatory synthetic niches for liver organoid derivation [J]. *Nat Commun*, 2020, 11(1): 3416.
- [34] MA W, ZHENG Y, YANG G, et al. A bioactive calcium silicate nanowire-containing hydrogel for organoid formation and functionalization [J]. *Mater Horiz*, 2024, 11(12): 2957-73.
- [35] CARPENTIER N, YE S, DELEMARRE M D, et al. Gelatin-based hybrid hydrogels as matrices for organoid culture [J]. *Bio-macromolecules*, 2024, 25(2): 590-604.
- [36] EIKEN M K, CHILDS C J, BRASTROM L K, et al. Nascent matrix deposition supports alveolar organoid formation from aggregates in synthetic hydrogels [J]. *Stem Cell Reports*, 2025, 20(1): 102376.
- [37] NIKOLOVA M T, HE Z, SEIMIYA M, et al. Fate and state transitions during human blood vessel organoid development [J]. *Cell*, 2025, 188(12): 3329-48, e31.
- [38] SUN D, ZHANG K, ZHENG F, et al. Matrix viscoelasticity controls differentiation of human blood vessel organoids into arterioles and promotes neovascularization in myocardial infarction [J]. *Adv Mater*, 2025, 37(5): e2410802.
- [39] ABILEZ O J, YANG H, GUAN Y, et al. Gastruloids enable modeling of the earliest stages of human cardiac and hepatic vascularization [J]. *Science*, 2025, 388(6751): eadu9375.
- [40] LOU X, WANG F, LÜ X, et al. Sequential angiogenic-osteogenic coupling via a spatiotemporally graded hydrogel enables vascularized bone organoids for critical-sized calvarial defect reconstruction [J]. *Compos B Eng*, 2025, 302: 112553.
- [41] YAN J, YE Z, LU Y, et al. 3D bioprinting lobule-like hepatorganoids with induced vascularization for orthotopic implantation [J]. *Mater Today Bio*, 2025, 31: 101515.