



边杉, 同济大学生命科学与技术学院院长聘副教授、博士生导师, 教育部“细胞干性与命运编辑”前沿科学中心研究员, 教育部干细胞资源库研究员, 同济大学附属东方医院再生医学研究所和心脏病全国重点实验室特聘研究员。2009年博士毕业于德国弗莱堡大学, 之后分别在美国康奈尔大学威尔医学院和奥地利科学院分子生物技术研究所以进行博士后研究, 2019年回国加入同济大学。长期以来结合临床队列分析、医学遗传学、人脑类器官和转基因动物模型, 致力于环境和遗传因素导致出生缺陷尤其是神经发育障碍研究, 以及人脑进化调控机制研究。以通信作者(含共同通信作者)身份将研究成果发表在*New Engl J Med*、*Med*、*J Clin Invest*、*EMBO Mol Med*、*EMBO Rep*、*J Genet Genomics*等, 主持包括科技部干细胞重点研发计划子课题、国家自然科学基金面上项目、上海“科技创新行动计划”自科基金项目、上海市浦江人才计划等多个科研项目。

脑肿瘤类器官的研究进展

李林波^{1,2} 边杉^{2*}

¹启东市人民医院/启东肝癌防治研究所/南通大学附属启东医院中心实验室, 南通 226200;

²同济大学生命科学与技术学院, 上海 200092)

摘要 原发性脑肿瘤由于其高度异质性和复杂的肿瘤微环境(tumor microenvironment, TME), 传统二维培养细胞和患者来源的异种移植(patient-derived xenograft, PDX)模型难以全面模拟其组织学和分子特征。脑肿瘤类器官(brain tumor organoids, BTOs)技术通过多能干细胞或肿瘤干细胞(cancer stem cells, CSCs)自组装形成三维结构, 能够保留原发肿瘤的基因型与表型异质性, 并保留人源化TME, 已成为解析脑肿瘤发病机制和开展临床前研究的理想平台。该文系统回顾了患者体细胞重编程、肿瘤组织直接培养及基因编辑驱动三种BTOs构建策略, 并详述了其在胶质母细胞瘤、髓母细胞瘤、弥漫性脑桥胶质瘤等主要亚型建模中的应用, 重点总结了BTOs在发病机制解析、CSCs与微环境互作、药物筛选与耐药性研究以及个性化精准治疗等方面的最新进展。同时, 该文还分析了BTOs模型的标准化、微环境复杂性模拟以及伦理和生物安全等关键挑战, 并展望了基因编辑优化、多组学整合、微流控平台与人工智能驱动的技术创新及临床转化路径, 以期脑肿瘤研究与治疗提供新思路和新工具。

关键词 脑肿瘤类器官; 肿瘤微环境; 药物筛选; 精准治疗

Research Progress of Brain Tumor Organoids

LI Linbo^{1,2}, BIAN Shan^{2*}

(¹Central Laboratory, Qidong People's Hospital, Qidong Liver Cancer Institute, Affiliated Qidong Hospital of Nantong University, Nantong 226200, China; ²School of Life Sciences and Technology, Tongji University, Shanghai 200092, China)

收稿日期: 2025-06-15

接受日期: 2025-08-02

南通大学临床医学专项科研基金(批准号: 2024JZ026)和南通市卫生健康委员会科研课题(批准号: MS2024103)资助的课题

*通信作者。Tel: 021-65981041, E-mail: shan_bian@tongji.edu.cn

Received: June 15, 2025

Accepted: August 2, 2025

This work was supported by the Nantong University Special Research Fund for Clinical Medicine (Grant No.2024JZ026) and the Scientific Research Project of the Nantong Municipal Health Commission (Grant No.MS2024103)

*Corresponding author. Tel: +86-21-65981041, E-mail: shan_bian@tongji.edu.cn

Abstract Primary brain tumors exhibit profound heterogeneity and a complex TME (tumor microenvironment) that traditional 2D cultures and PDX (patient-derived xenograft) models cannot fully recapitulate. BTOs (brain tumor organoids), generated via the self-organization of pluripotent stem cells or CSCs (cancer stem cells) into three-dimensional structures, preserve the genetic and phenotypic diversity of the original tumors while incorporating key elements of the human microenvironment. This review systematically summarizes three principal strategies for BTOs construction—patient somatic cell reprogramming, direct derivation from tumor specimens, and gene-editing-driven approaches—and details their applications across major tumor subtypes, including glioblastoma, medulloblastoma, and diffuse intrinsic pontine glioma. In this review, recent advances in leveraging BTOs to dissect pathogenic mechanisms, study TME interactions, screen therapeutics, investigate drug resistance, and develop personalized precision therapies are highlighted. Additionally, critical challenges in model standardization, microenvironment complexity, and ethical-biosafety considerations are discussed. Emerging innovations—such as refined gene-editing protocols, multi-omics integration, microfluidic platforms, and AI-driven analyses—are also explored, with the goal of offering new insights and tools for brain tumor research and treatment.

Keywords brain tumor organoids; tumor microenvironment; drug screening; precision medicine

脑肿瘤,尤其是原发恶性胶质瘤,以高致残率、高死亡率著称;全球每年中枢神经系统肿瘤新诊断约三十万例^[1],最常见的胶质母细胞瘤(glioblastoma, GBM)五年生存率不足10%^[2],儿童髓母细胞瘤复发率高达40%^[3],对公共卫生造成沉重负担。近年来涌现的靶向治疗、免疫治疗等新型疗法也因疗效有限而难以应用于临床^[4-5],究其根本原因在于缺乏能够全面模拟脑肿瘤特征的合适模型用于解析其发病机制和临床前研究。传统二维细胞培养虽操作简便但缺乏三维功能性细胞间相互作用,且随传代次数增加细胞会出现表观遗传和转录层面改变^[6-7];肿瘤球体模型虽保留三维结构,但瘤内异质性有限且缺乏基质相互作用、免疫反应等复杂的肿瘤微环境(tumor microenvironment, TME)^[8];患者来源异种移植(patient-derived xenografts, PDX)模型虽能保留TME,维持原发肿瘤表型和异质性,却因物种差异导致实验结果不一致且存在成功率低、周期长和成本高等问题^[9];PDX虽保留原位TME细胞组成却面临移植物存活时间短、扩增能力差等操作难题^[10]。在此背景下应运而生的脑肿瘤类器官(brain tumor organoids, BTOs)技术通过人多能干细胞或肿瘤干细胞(cancer stem cells, CSCs)自组装形成三维结构,不仅能精确模拟肿瘤组织特征,维持多细胞谱系和复杂细胞间通讯^[11],还能保留亲本肿瘤基因型和表型异质性并提供人源化TME^[12],相比于PDX具有构建周期短、成功率高且可长期培养建立生物样本库等优势,目前已广泛应用于CSCs研究、耐药机制解析等领域^[13]。BTOs在脑肿瘤研究中应用广

泛,例如,通过与正常脑类器官共培养模拟肿瘤侵袭过程^[14]、利用基因编辑构建突变类器官揭示驱动基因功能^[15]、基于微流控平台开发血管化类器官研究血脑屏障穿透性^[16]等,随着与单细胞测序等技术的整合^[17],BTOs技术正在推动脑肿瘤研究迈向精准医学新时代。

1 BTOs的构建策略

1.1 患者体细胞衍生的BTOs

部分脑肿瘤的发病机制与胚系突变密切相关,这些异常在神经系统发育早期就已启动并持续进展。针对此类疾病研究面临的模型匮乏问题,利用患者来源的体细胞(如外周血单核细胞和皮肤成纤维细胞)进行重编程,可获得具有患者特异性基因突变的诱导多能干细胞(induced pluripotent stem cells, iPSCs)。通过定向分化技术,这些iPSCs可形成包含肿瘤的脑类器官(图1)。特别值得关注的是,肿瘤形成表现出明显的时序特异性,仅在类器官发育至特定阶段才开始显现并持续扩增。该模型系统高度重现了原发肿瘤的组织学特征、增殖特性和分子信号网络,为深入探究这类脑肿瘤的发病机制和药物筛选提供了理想的实验平台。目前应用此方法构建脑肿瘤模型的研究只在神经纤维瘤^[18]和结节性硬化症^[19]中得到验证。

1.2 肿瘤组织直接衍生的BTOs

肿瘤组织衍生的BTOs是通过从手术切除或活检获得的肿瘤组织中分离出肿瘤细胞或CSCs,在特

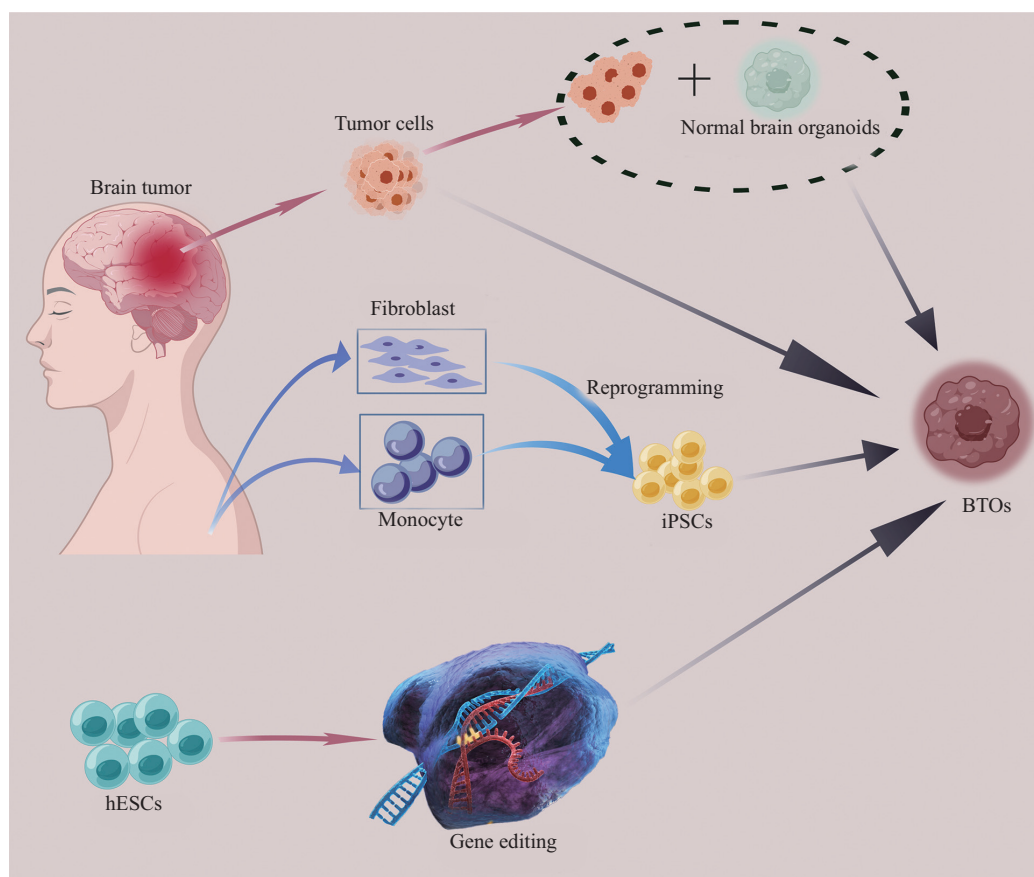


图1 BTOs的构建策略[图片素材来自BioGDP(<https://biogdp.com>)]

Fig.1 Construction strategies of BTOs [image material from BioGDP (<https://biogdp.com>)]

定条件下形成的三维类器官结构(图1)。这种模型能够更真实地反映患者特异的肿瘤遗传背景、细胞异质性以及TME的复杂性,因而被广泛应用于肿瘤生物学机制研究、药物筛选和精准医学治疗策略探索。研究显示,BTOs在多种癌症研究中展现出巨大潜力,其建模成功率因癌症类型、组织质量和培养基成分等因素而有所差异^[20]。应用这种方法,已经建立了多种BTOs模型,包括GBM^[12,21-24]、髓母细胞瘤(medulloblastoma, MB)^[25-28]、低级别胶质瘤(low grade glioma, LGG)^[26,29-31]、弥漫性脑桥胶质瘤(diffuse intrinsic pontine glioma, DIPG)^[32]、少突胶质细胞瘤^[33]、室管膜瘤(ependymoma, EPN)^[26]、脑膜瘤(meningiomas)^[34]、神经母细胞瘤(neuroblastoma, NB)^[32]等。

1.3 基因编辑驱动类器官肿瘤化

利用基因编辑技术(如CRISPR/Cas9)在发育中的脑类器官中引入特定的肿瘤相关突变,能够有效模拟人类脑肿瘤的发生和发展过程(图1)。这种方法首先通过iPSCs或胚胎干细胞(embryonic stem

cells, ESCs)建立三维脑类器官模型,然后利用病毒载体或电转技术精准地引入肿瘤驱动基因的突变,产生表现出明确肿瘤表型的类器官。此外,在干细胞中引入致癌遗传突变,然后将其诱导为大脑类器官,也能够建立BTOs模型。随后通过病理学检测、单细胞转录组测序等手段对这些类器官进行深入分析,以揭示肿瘤细胞的增殖、迁移和恶性转化等特征,并明确相应分子机制。同时,通过该方法建立的BTOs还支持药物筛选和个体化精准医疗的探索。应用这一方法建立的脑肿瘤模型包括GBM^[15,35-38]、MB^[39-41]、原始神经外胚层肿瘤(primitive neuroectodermal tumor, PNET)^[15]、非典型畸胎样横纹肌样瘤(atypical teratoid rhabdoid tumor, ATRT)^[42]等。

2 BTOs模拟的脑肿瘤亚型

应用前面描述的BTOs的不同生成方法,研究人员已经建立了多种亚型的BTOs模型,下面将对不同亚型BTOs展开论述。

2.1 胶质瘤

胶质瘤是最常见的原发性脑肿瘤^[43], 类器官技术为其分型与机制研究提供了新途径^[44]。GBM作为恶性程度最高的胶质瘤, 许多研究应用患者来源的组织或细胞, 或者在正常干细胞或发育中的类器官中复现GBM的遗传改变模式进行了BTOs建模(表1)。

2016年, HUBERT等^[12]将GBM患者样本解离为单细胞, 并嵌入基质胶中建立了GBM BTOs, 该模型能再现GBM的细胞多样性和TME, 并且包含不同状

态的GBM干细胞, 为研究其生物学特性提供了实验平台。2019年, LINKOUS等^[45]将GBM来源的胶质瘤干细胞(glioma stem cell, GSC)和正常ESC诱导的脑类器官共培养, 建立了脑类器官胶质瘤(cerebral organoid glioma, GLICO)模型, 发现了GSC会随着时间推移而增殖并整合到类器官中, 该模型中GSC保留了异质性, 并表现出不同的生长特征, 这可能与来自于不同的GBM患者有关。2020年, JACOB等^[24]直接将切除的GBM患者样本诱导为BTOs, 该模型保留了包括免疫细胞和内皮细胞在内的细胞间相互

表1 现有研究中建立的不同BTOs
Table 1 Different BTOs established in current studies

脑肿瘤模型 Brain tumor model	建立方法 Establishment method	使用细胞 Cell application	参考文献 References
GBM	Three-dimensional culture of tumor cells	Patient derived GSCs	[12,30,73-75]
	Three-dimensional culture of tumor masses	GBM tumor tissues	[24,76-80]
	Co-culture of GSCs and normal organoids	Patient derived GSCs/H9-hESCs	[14,45,81-84]
	<i>TP53^{-/-}/HRas^{G12V OE}</i>	H9-hESCs	[35]
	<i>CDKN2A^{+/+}/CDKN2B^{-/-}/EGFR^{OE}/EGFRvIII^{OE}</i>	H9-hESCs	[15]
	<i>PTEN^{-/-}/TP53^{+/+}/NF1^{-/-}</i>		
	<i>CDKN2A^{+/+}/EGFRvIII^{OE}/PTEN^{-/-}</i>		
	<i>EGFRvIII^{OE}</i>	H9-hESCs	[36]
	<i>PTEN^{-/-}/TP53^{-/-}</i>	iPSCs	[37]
	<i>PTEN^{-/-}/TP53^{+/+}/CDKN2A^{-/-}/CDKN2B^{-/-}</i>		
	<i>PTEN^{-/-}/TP53^{+/+}/NF1^{-/-}</i>		
	<i>PTEN^{-/-}/TP53^{-/-}/NF1^{-/-}</i>	H9-hESCs	[46]
	<i>NF1^{-/-}/PTEN^{-/-}/TP53^{+/+} (p53^{+/+})</i>	H1-hESCs/H9-hESCs	[47]
	<i>TERT^{pC228T}/TP53^{R248Q}</i>	H1-hESCs	[38]
	<i>TERT^{pC228T}/PTEN^{-/-}/NF1^{-/-}</i>		
DIPG	Co-culture of patient cells with normal organoids	Patient derived tumor cells/H9-hESCs	[32,49-50]
	<i>H3.3^{G34R}/ATR^X^{-/-}/TP53^{-/-}</i>	H9-hESCs	[51]
LGG	Three-dimensional culture of tumor tissues/cells	Tumor tissues/cells of LGG patients	[26,29-31]
EPN	Three-dimensional culture of tumor tissues/cells	Tumor tissues/cells of EPN patients	[26,54]
	<i>ZFTA-RELA</i>	H9-hESCs	[53]
	<i>YAP1-MAMLD1/YAP1-FAM118B</i>		
MB	Three-dimensional culture of tumor cells	Patient derived GSCs	[27-28,57]
	Three-dimensional culture of tumor masses	Tumor tissues	[26]
	Co-culture of tumor cells with cerebellar organoids	iPSCs/SHH-MB cell line	[25,58-59]
	<i>Otx2^{OE}/c-MYC^{OE}</i>	iPSCs	[39-40]
	<i>PTCH1^{-/-}</i>	iPSCs	[41]
Meningioma	Three-dimensional culture of tumor tissues/cells	Patient tumor tissues/cells	[34,62-65]
NB	Three-dimensional culture of tumor cells	Patient tumor cells	[32,66-71]
ATRT	Co-culture of tumor cells with organoids	Tumor cell lines/iPSCs	[59]
	Three-dimensional culture of tumor cells	Patient tumor cells	[72]
	<i>SMARCB1^{-/-}</i>	iPSCs	[42]
PNET	<i>MYC^{OE}</i>	H9-hESCs	[15]

作用和细胞异质性,其基因表达模式和亲本高度相似。后续许多研究人员利用以上不同方法建立了相应的GBM BTOs,并将其应用于肿瘤相关机制研究和靶向疗法开发。

除了从患者组织或细胞建立模型外,通过基因编辑方法在类器官不同阶段引入致癌改变也可建立相应的GBM BTOs模型。2018年,OGAWA等^[35]在分化4个月后的类器官中过表达*HRas*^{G12V}并破坏*TP53*,产生了类似GBM的肿瘤,其基因表达模式与间充质亚型GBM类似。通过转座子和CRISPR/Cas9介导的诱变技术,在类器官神经外胚层细胞中引入不同的突变或突变组合,BIAN等^[15]建立了肿瘤性脑类器官(neoplastic cerebral organoid, neoCOR),该模型的转录组特征与GBM非常类似,为探究肿瘤细胞与周围正常组织之间的相互作用以及肿瘤的侵袭行为提供了有效模型。采用相同的方法,TAUBENSCHMID-STOWERS等^[46]在类器官神经外胚层细胞中敲除肿瘤抑制基因*TP53*、*NF1*和*PTEN*,建立了GBM BTOs,用于长期监测肿瘤生长和药物测试。KIM等^[36]应用CRISPR/Cas9技术将*EGFRvIII*基因变体引入H9-hESCs中,并将其诱导为大脑类器官,这促进了星形胶质细胞的早期分化,并且增强了细胞增殖,他们发现该模型可以用于测试潜在的抗GBM药物。也有研究结合慢病毒转导Tet-On系统,用多西环素处理2个月的类器官,利用*Nestin*启动子驱动的shRNA同时敲除*PTEN*、*TP53*和*NF1*,建立了前神经型GBM BTOs,其在研究GBM的起始和进展方面具有重要价值^[47]。2024年,WANG等^[37]在人iPSCs中应用CRISPR/Cas9技术引入特定突变组合,并将其诱导为大脑类器官,建立了GBM样类器官,称为实验室工程GBM样类器官(laboratory-engineered glioblastoma-like organoids, LEGOs),LEGOs生长迅速,1个月后就表现出核异型性,重现了GBM细胞异质性的关键特征,其DNA甲基化模式和代谢组学在不同培养阶段动态变化,且与不同基因突变组合存在关系。最近,ISHAHAK等^[38]利用Cas9重组蛋白和合成的单链引导RNAs转染hESCs,引起*TERT*和*TP53*突变,或者敲低*PTEN*和*NF1*,建立了工程化的GBM类器官(engineered GBM brain organoids, eGBOs),引入的GBM特异性突变破坏了正常的神经发育基因调控网络,导致类器官中细胞组成和空间组织结构发生了变化,并且在小鼠体内,eGBOs能够形成肿瘤,其转录组和空间分布特

征与人类GBM样本高度相似。

DIPG是一种恶性程度较高的脑肿瘤,好发于儿童和青少年,其病理与组蛋白突变密切相关^[48]。许多研究将该肿瘤细胞与正常类器官融合培养建立了BTOs模型^[32,49-50],为此类肿瘤的药物筛选提供了便利的工具。为了模拟另一种携带组蛋白*H3.3*^{G34R}突变的高级别胶质瘤,有研究在hESCs中联合缺失*ATR*X和*TP53*,按照腹侧前脑诱导的方式产生类器官,建立了此类肿瘤的基因工程BTOs模型^[51]。

目前,LGG BTOs模型的建立几乎都基于患者来源的组织或细胞。在临床中诊断为1~3级的胶质瘤,如星形细胞瘤和少突胶质瘤BTOs分别被不同的研究人员建立^[26,29-31],这些类器官保留了患者中异柠檬酸脱氢酶或受体酪氨酸激酶的相关遗传改变,可以很好地支持相应肿瘤的临床前研究,特别是与肿瘤免疫学、肿瘤-基质相互作用、新药物靶点的识别和治疗反应概况的个性化评估相关的研究。

EPN是一类发生于儿童或成年人的中枢神经系统(central nervous system, CNS)胶质瘤,通常位于幕上、后颅窝或脊髓^[52]。有研究在hESCs中导入EPN特征性致癌融合基因*ZFTA-RELA*或*YAPI-MAMLD1/YAPI-FAM118B*,并将其诱导为类器官,建立了相应的EPN BTOs,其在组织学和分子学上与EPN肿瘤组织非常相似^[53]。同样,将EPN患者的肿瘤组织或细胞进行三维培养,也可以建立ENP患者来源的BTOs模型,该模型对于此类疾病的临床前研究具有重要意义^[26,54]。

2.2 MB

MB是儿童常见的恶性脑肿瘤,在经典的分类中,将其分为4种亚型:Wnt、SHH、Group 3和Group 4,不同亚型之间病理差异较大,具有不同的遗传改变特征,患者生存率也不同^[55-56]。利用患者来源肿瘤组织或细胞,建立了多种亚型MB(包括SHH、Group 3和Group 4)的BTOs模型^[26-28,57]。将MB细胞系DOAY^[25,58]、USP13-Med^[59]、ICb-1299、CHLA-01-MED或CHLA-01R-MED^[25]与正常大脑类器官共培养,发现这些恶性细胞表型与患者肿瘤相似,表明该模型优于传统的体外模型,在靶向药物筛选方面具备潜力。

*MYC*过表达是Group 3亚型MB的特异性遗传特征^[56],有研究将iPSCs诱导为小脑类器官,在培养到第35天时,通过电转的方式在类器官细胞中过表达*c-MYC*和*OTX2*,产生了MB样类器官,其DNA甲基

化水平与 Group 3 亚型 MB 相似^[39], 后续有研究采用此模型进行了药物筛选^[40]。*PTCH1* 基因与 SHH 亚型 MB 的病理密切相关, 有研究将敲除 *PTCH1* 基因的 iPSC 诱导为小脑类器官, *PTCH1* 纯合缺失的类器官生长更快, 类器官细胞中与 SHH 通路相关的基因表达显著上调, 模拟了 SHH 亚型 MB 的特征^[41]。

2.3 其他脑肿瘤

与胶质瘤和 MB 相比, 应用大脑类器官模拟其他脑肿瘤的研究相对较少, 这可能与此类肿瘤发病率低, 以及相关分子机制还不明确有关^[60]。

脑膜瘤是最常见的原发性 CNS 肿瘤, 起源于脑膜中的蛛网膜帽细胞^[61]。通过分离患者肿瘤组织^[34]或肿瘤细胞^[62-65]进行三维培养, 多个研究团队建立了病人来源的脑膜瘤 BTOs 模型。采用类似的方法, NB BTOs 模型也被建立^[32,66-71], 此类模型多应用于体外药物筛选, 在临床应用中颇具潜力。

ATRT 是一种恶性脑肿瘤, 好发于儿童, 其机制主要涉及到编码染色质重塑 BAF 复合物的 *SMARCB1* 基因的失活, 该基因在发育过程中扮演重要角色^[61]。有研究将缺失 *SMARCB1* 的 iPSCs 诱导为大脑类器官, 建立了此类肿瘤的 BTOs 模型, 揭示了 *SMARCB1* 缺失与神经分化状态之间的潜在关联, 提供了对 ATRT 肿瘤发生机制的新见解^[42]。将 ATRT 细胞系(如 USP7)与正常大脑类器官共培养, 可以用于探究溶瘤病毒在儿童 CNS 肿瘤中的作用^[59]。同样, 患者肿瘤细胞来源的 ATRT BTOs 也被构建^[72], 为该肿瘤不同亚组的特异性疗法开发提供了平台。

PNET 是一类罕见的、具有高度恶性的神经系统肿瘤, 主要影响儿童和青少年。这些肿瘤源自中枢神经系统的原始神经外胚层细胞, 通常在脑部或脊髓中发生。在最新的 CNS 肿瘤分类中, PNET 被归为神经外胚层肿瘤^[61]。有研究在大脑类器官神经外胚层细胞中过表达 *MYC*, 成功构建了该亚型的 BTOs 模型^[15]。

3 BTOs 的应用

3.1 脑肿瘤发病机制解析

脑肿瘤的发生是一个多因素、多步骤的过程, 涉及遗传、表观遗传等多方面的因素^[61]。类器官技术为解析脑肿瘤的发病机制提供了一个理想的平台(图 2)^[85]。在这一领域, 类器官模型被用来模拟肿瘤细胞的生长模式、基因突变以及微环境对肿瘤细胞的影响,

揭示了脑肿瘤发生的关键分子和通路。

类器官能够重现脑肿瘤中的特异性基因变异, 并帮助研究人员深入研究这些突变如何导致肿瘤的发生。例如, BIAN 等^[15]通过构建包含 *EGFR* 扩增和 *TP53* 突变的 GBM 类器官, 发现 *EGFR* 信号异常激活导致 PI3K/AKT/mTOR 通路持续活化, 驱动肿瘤细胞增殖和侵袭; 同时 *TP53* 失活显著上调 *MMP-9* 表达, 促进细胞外基质降解及转移。通过构建 *IDH1*^{R132H} 突变的 BTOs 模型, 揭示该突变通过抑制组蛋白去甲基化酶 *KDM4B* 表达, 导致全基因组 DNA 超甲基化及细胞分化阻滞^[45]。

对于胚胎源性肿瘤, 小脑类器官模型揭示 SHH 亚型 MB 起源于颗粒神经元前体细胞发育异常, *PTCH1* 失活导致 Smo-Gli 信号失控^[39,41]; 在 EPN 类器官中发现 *ZFTA-RELA* 融合基因通过组成性激活 NF- κ B 通路, 扰乱神经发育程序驱动肿瘤发生^[53]。在肿瘤侵袭机制解析中, 单细胞分析结合类器官共培养显示胶质瘤细胞沿血管侵袭依赖 Netrin-1/DCC 轴信号^[14], DIPG 细胞浸润则由层粘连蛋白-整合素 $\beta 1$ 相互作用介导^[49]。

除了基因突变外, 表观遗传学也在脑肿瘤的发病机制中发挥重要作用。类器官模型不仅可以模拟基因突变, 还能够重现肿瘤细胞在表观遗传层面的变化。研究表明, 来源于患者的 GBM 类器官还原了 *MGMT* 启动子甲基化状态, 在表观遗传学上高度保真, 证明了类器官模型在模拟肿瘤 DNA 甲基化方面的可靠性^[80]。对 LEGOs DNA 甲基组进行系统比对, 发现类器官在甲基化水平上显著区别于上游 iPSC, 同时保留了肿瘤特异的甲基化标志^[37]。对患者来源的 GBM 类器官进行空间分辨的表观遗传功能基因组筛选, 鉴定出 *WDR5* 在 SOX2 富集的耐药性 CSCs 微环境中作为关键表观遗传调控因子的作用, 进一步证明了组蛋白修饰在类器官中的精准模拟和靶向可行性^[86]。

CSCs 被认为是脑肿瘤复发的根源, 特别是在 GBM 等高度侵袭性的肿瘤中。类器官技术能够有效地模拟 CSCs 的生物学特性, 帮助研究者了解 CSCs 如何通过自我更新和分化促进肿瘤的恶性进展。例如, HUBERT 等^[12]建立的 GBM 类器官模型, 成功再现了低氧梯度和 CSCs 的异质性, 这为理解 CSCs 在原位微环境中的行为提供了新平台。类似地, JACOB 等^[22]通过患者来源的 GBM 类器官生物库, 进一步揭示了 CSCs 如何与免疫细胞及基质细胞进行动态交

互,从而促进肿瘤的复发和免疫逃逸。最近有研究通过与免疫细胞共培养GBM类器官,发现CSCs通过分泌IL-6、TGF- β 等细胞因子,并高表达PD-L1,重塑TME,进而诱导免疫耐受,逃避免疫监视,促进肿瘤复发^[23]。类器官模型还在评估CSCs对化疗和放疗的耐药机制方面显示出重要价值。例如,类器官模型中的CSCs在化疗后展现出更强的DNA修复能力,与临床耐药高风险样本一致^[87]。此外,通过靶向Notch信号通路,可抑制CSC自我更新并增强其对 γ -射线的敏感性,提示靶向微环境信号或可减轻CSC驱动的耐药性^[88]。

3.2 TME互作研究

TME在脑肿瘤的发生、发展和治疗反应中起着关键作用。肿瘤细胞与基质细胞、免疫细胞之间存在复杂的信号交流,这些相互作用影响着肿瘤的生长、侵袭和免疫逃逸。通过与正常大脑类器官共培养,肿瘤细胞能够在接近生理条件的环境中生长,该环境提供了比传统二维细胞培养更为真实的微环境模型,帮助研究肿瘤如何与宿主组织互动,尤其是与BBB之间的相互作用^[16]。在肿瘤细胞侵袭类器官的研究中,类器官可以有效地复现肿瘤细胞与正常组织的互动,并揭示肿瘤如何在微环境中表现出不同的侵袭行为(图2)。这对于研究TME的组成及其对侵袭性肿瘤细胞行为的影响非常重要^[83]。此外,将肿瘤细胞与类器官共培养时,肿瘤细胞在类器官模型中的免疫环境与体内肿瘤的免疫逃逸机制表现出高度的一致性^[89-90]。在治疗后,免疫细胞在肿瘤中心和周边的分布发生了显著变化,表明肿瘤通过特定的方式与免疫系统互动^[78]。在DIPG肿瘤细胞与类器官融合培养的模型中,敲低层粘连蛋白相关的*ITGa6/ITGb1*可显著抑制DIPG细胞向类器官内部浸润,使携带GFP信号的肿瘤细胞荧光强度降低超过50%;同时,敲低组对放疗和HDAC抑制剂的敏感性增强,肿瘤球体体积减小,凋亡标志物表达上调^[49]。将MB细胞系与小脑类器官共培养,发现共培养肿瘤细胞表现出更高的转录异质性,部分亚群激活了CSCs相关基因(如*SOX2*、*OLIG2*),这与患者样本中识别的恶性细胞状态高度吻合,表明非恶性小脑类器官的TME可以通过非细胞自主机制驱动SHH-MB细胞向体内恶性状态转化,提示TME在肿瘤塑型中的关键作用^[58]。

3.3 药物筛选与耐药性研究

类器官在药物筛选与耐药性研究中具有独特优势。通过构建BTOs模型,可在体外模拟肿瘤对药物的反应,高效筛选出具有潜在疗效的药物。利用类器官进行药物筛选,能够更准确地预测药物在体内的疗效,提高药物研发的成功率(图2)。通过BTOs CAR-T共培养实验评估CAR-T疗法的疗效时,发现BTOs能维持特定的胶质瘤相关抗原(如EGFRvIII)表达,这种表型在传统的二维培养中往往会丧失^[22,91]。JACOB等^[22]构建的BTOs可作为免疫治疗的体外测试平台,证明了CAR-T细胞能够侵入BTOs并特异性杀伤EGFRvIII阳性肿瘤细胞。另外,MARTINS等^[92]则利用BTOs CAR-T共培养实验,成功地证明了针对肿瘤相关受体酪氨酸激酶EphA3的CAR-T细胞能有效地穿透BTOs、诱导肿瘤细胞凋亡并分解EphA3阳性GBM细胞。此外,DARRIGUES等^[93]应用BTOs模型评估了小分子药物的抗肿瘤效果,验证了其在更大患者群体中的应用潜力。在耐药性研究中,BTOs也展现了独特优势。例如,ZUO等^[94]通过将胶质瘤相关成纤维细胞(glioma-associated fibroblasts, GAFs)与BTOs共培养,揭示了GAFs通过CCL2信号通路激活ERK1/2,增强胶质瘤细胞对替莫唑胺的耐药性,进一步证明了靶向CCL2或MEK1/2的抑制剂在一定程度上能够减轻治疗中的耐药性。这些研究为未来小分子药物和免疫治疗的评估提供了新的方向,并为克服GBM的治疗难题带来了新的希望。

3.4 个性化医疗与精准治疗

个性化医疗与精准治疗是类器官在转化医学中的重要应用方向。基于患者来源的BTOs,可根据其遗传和生物学特性制定个性化的治疗方案(图2)。基于手术新鲜样本构建的患者来源BTOs模型,通过完整保留TME的空间异质性及免疫细胞组分,克服了传统基因组学静态分析忽视微环境动态演变的局限^[95-97]。这种功能性平台可有效模拟临床治疗场景:当对BTOs施加术后标准护理(包括替莫唑胺化疗及放射治疗)时,其药物响应精准映射患者生存结局——治疗耐受性BTOs对应于中位生存期的患者,而敏感型模型则对应长期生存群体^[24]。值得注意的是,针对GBM等侵袭性强、治疗窗口期短的恶性肿瘤,BTOs模型能在7~14天内完成药敏检测,远早于肿瘤复发时间窗,为早期制定个体化方案提供可能。在难治性脑肿瘤临床实践中,BTOs技术突破了“通

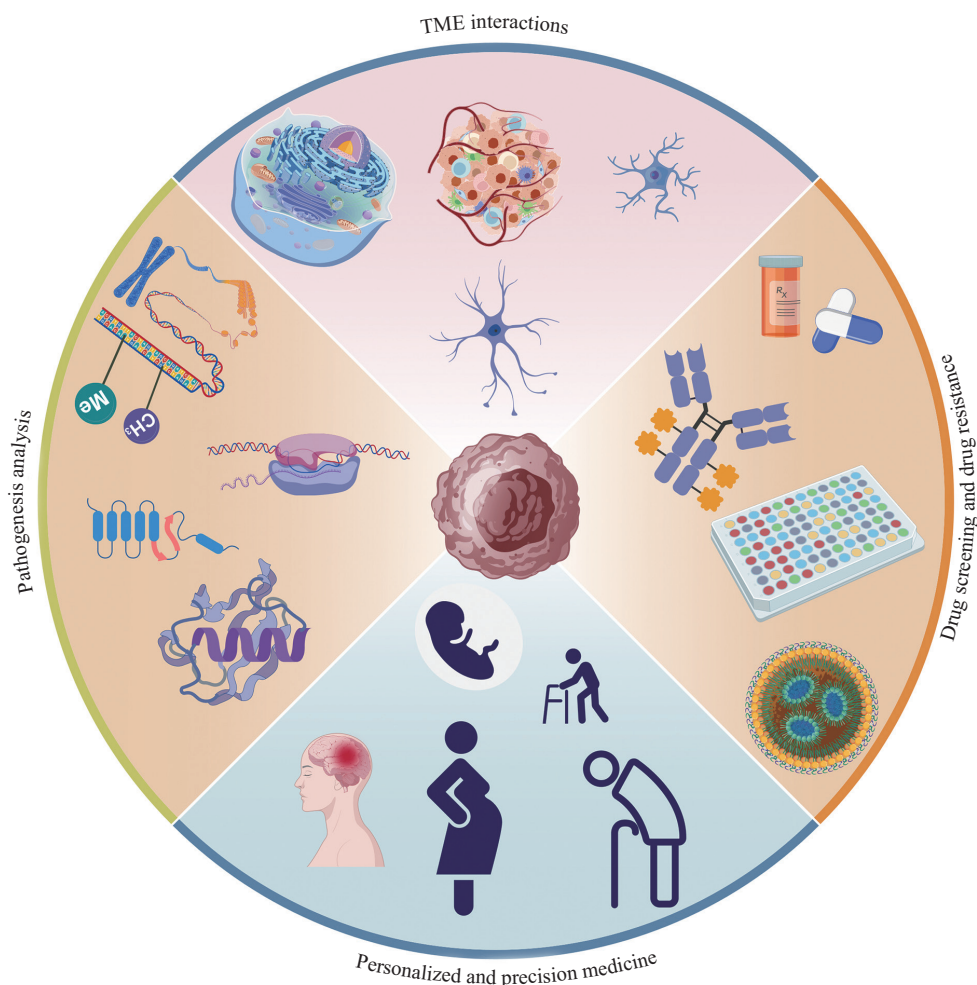


图2 BTOs的主要应用场景[图片素材来自BioGDP(<https://biogdp.com>)]

Fig.2 The main application scenarios of BTOs [image material from BioGDP (<https://biogdp.com>)]

用型治疗”范式^[98]。通过对复发患者来源的BTOs进行高通量体外药物筛选(如酪氨酸激酶抑制剂与免疫检查点抑制剂联合方案),能够发现传统基因检测方法无法识别的有效治疗策略^[99-102]。研究证实,对于标准治疗失效的转移性脑瘤及低级别胶质瘤患者,48小时BTOs药敏测试可重新指导临床用药选择,显著提升生存获益^[76]。此外,结合CRISPR/Cas9基因编辑技术对BTOs进行致病突变修正(如*IDH1*突变修复),不仅能构建精准药物筛选平台,还可衍生出经基因校正的自体神经干细胞,为个性化细胞替代治疗提供安全可控的细胞来源。现有证据虽已证实BTOs的预测价值^[24,76],但其临床应用仍面临挑战:大规模验证研究尚未开展,GBM等肿瘤的时空异质性可能影响模型可靠性。未来需结合单细胞测序与活体成像技术,在BTOs中动态追踪药物作用下TME的演变规律,最终建立覆盖肿瘤全生命周期的精准治

疗决策系统。

4 BTOs模型存在的技术挑战与解决方案

4.1 模型标准化问题

模型标准化是类器官技术广泛应用面临的重要挑战之一。在过去十年中,从最早由LANCASTER等^[11]提出的“未引导”全脑类器官(cerebral organoids),到后续的区域定向^[103]、单神经管^[104]、胎儿组织来源^[105]、组装体(assembly)^[106]及微流体芯片平台^[107],脑类器官模型已呈现多样化发展;然而,不同实验室在细胞系来源、培养基成分、膜外基质使用、尺寸控制及分区诱导等方面差异显著,导致类器官在形态、分子谱及功能评估上缺乏可比性。为解决这一问题,需要建立统一的类器官构建和培养标准,包括规范细胞来源、优化培养条件、制定质量控制标准等。

基于现有的研究,人们普遍采用了一整套标准化与质量控制(quality control, QC)策略,以确保不同实验室之间结果的可比性与重复性。首先,在细胞系与拟胚体制备阶段,每批人源多能干细胞都需通过核型分析、微生物学检测及*OCT4/NANOG*等多能性标记的验证,确认细胞纯净且具备广泛的分化潜能;其次,严格统一每个拟胚体中3 000~10 000个种子细胞,并根据需要选择旋转式或静态培养,以保证初期聚集体的大小和密度一致^[108]。接着,在培养基与外基质的选择上,前期3~7天采用双SMAD抑制剂(Noggin+SB431542)调控Wnt信号通路,后续根据目标区域再添加SHH激动剂或FGF8等诱导因子以实现背/腹、前/后脑的精确分区^[103];同时,基质胶或合成水凝胶的包埋体积严格控制在20~30 μ L范围内,并记录基质批次与成分配比。为了对类器官进行全方位QC,需要从形态学、分子标记、功能和转录组多个层面进行评估:显微镜下筛选直径300~600 μ m、仅含单一神经玫瑰花环结构的类器官;免疫荧光检测*PAX6*、*SOX2*、*TBR2*、*CTIP2*及*FOXP2/EMX1*等区域特异性标志^[104];采用多电极阵列或钙成像评估神经元活动和突触功能;最后将大脑类器官转录组与人脑转录组数据(Allen brain atlas, <https://portal.brain-map.org/>)进行比对,确保细胞发育阶段与体内一致。所有实验数据和QC指标需按照“MIAOU最低信息”框架报告,包括细胞来源、培养条件、QC结果及表型分析。此外,推荐在多中心开展环间测评,使用统一的GMP(good manufacturing practice)级试剂与详细SOP(standard operating procedure)^[109];借助自动化图像分析(如SegmentAnything算法)实时监控类器官的形态变化;并通过建立公开的质控数据库与生物样本库,推动大规模多模态数据的整合与再利用,从而为脑类器官在基础研究和转化医学中的应用提供坚实可靠的技术支持^[108]。

4.2 微环境复杂性模拟

TME具有高度复杂性,包含不同类型的肿瘤细胞、免疫细胞、基质细胞以及各种细胞外基质和信号分子。目前,类器官模型在模拟TME方面仍面临一些技术挑战,尤其是在再现细胞间相互作用和信号转导的复杂性方面存在不足^[12,110]。现有模型往往难以完整重现TME中的多种细胞和分子互动,限制了我们对于脑肿瘤生物学行为的深度理解。

可采用多种技术手段更好地模拟TME的复杂

性。例如,通过改良患者来源类器官的消化流程与培养配方,可保留CSCs、基质异质性及原位免疫浸润^[88];结合3D生物打印技术精准构建肿瘤-免疫-基质空间层次,实现CAR-T细胞/免疫检查点抑制剂等疗法的体外评估^[111];利用微流控芯片(organoid-on-a-chip)模拟流体剪切力与营养梯度,动态引入内皮/免疫细胞以建立血管化微环境^[112-114];此外,将肿瘤相关巨噬细胞、成纤维细胞等嵌入类器官,可重现免疫浸润与基质重塑过程^[115]。这些技术突破显著增强了类器官对TME复杂性的模拟能力,为解析肿瘤免疫逃逸机制、高通量药物筛选(尤其是免疫疗法)及个体化治疗预测提供了高生理相关性平台^[116]。

4.3 伦理与生物安全问题

BTOs的构建和应用,除了面临技术层面的挑战外,还涉及伦理和生物安全等重大问题。在伦理方面,类器官的构建通常依赖于hESCs或患者组织样本,这引发了许多伦理争议。胚胎干细胞的使用涉及胚胎的伦理问题,患者组织样本的使用则需要严密保障患者隐私及其知情同意过程^[117]。此外,由于类器官技术的快速发展和广泛应用,如何界定其在医疗与研究中的边界,以及如何保护相关参与者的权益,已成为全球范围内的争论焦点^[118-119]。

在生物安全中,类器官的培养与应用同样面临潜在的风险。例如,病原体的传播、基因编辑技术的潜在风险以及外源性物质对生物系统的干扰,都可能对研究人员和公众健康造成潜在威胁^[120]。因此,针对这些问题,研究者和相关监管机构需要制定更加严格的伦理与生物安全准则。首先,必须明确类器官研究的伦理界限,确保所有实验符合伦理规范,尊重参与者的个人权利与隐私。其次,要加强生物安全管理,建立和完善相应的监控与监管体系,尤其是在基因编辑和病原体传播风险的防控方面。最后,为提升公众对这些问题的认知和理解,应开展广泛的科普教育,建立科学、理性、透明的社会对话机制,确保科技进步不会超越伦理和安全的界限^[119]。

5 大脑类器官模拟脑肿瘤的未来展望

5.1 技术创新方向

未来大脑类器官模拟脑肿瘤的技术创新方向具有广阔前景。一方面,基因编辑技术将不断优化,提高基因编辑的精准性和效率以更高保真度和更低脱靶率来精准操控脑肿瘤相关基因。开发高保真度

Cas9变体(如SpCas9-HF1、eSpCas9)可显著降低脱靶概率,实现对肿瘤驱动基因的精确敲入或敲除,为构建功能更完善的BTOs模型提供可能^[121]。与此同时,将CRISPR/Cas9与单细胞组学联动的筛选平台使得对候选基因的功能评价更具通量和深度,可在类器官体系中高效验证新型脑肿瘤驱动因子^[122]。

进一步,通过整合基因组学、转录组学、表观组学、蛋白质组学及代谢组学等多层次数据,能够全面解析BTOs的分子异质性和生物学行为。最新的GBM-like类器官研究在单细胞转录组、表观组、脂质组及蛋白组等多组学维度揭示了肿瘤异质性和生物功能的多层次驱动机制,为发现新的治疗靶点提供了前所未有的视角^[37]。此外,将空间组学技术应用于类器官体系,可解析肿瘤细胞与微环境的交互网络,揭示代谢通路和免疫细胞浸润模式的空间分布特征,为靶向干预提供依据^[123]。

大规模类器官数据伴随高通量成像与多组学,亟需人工智能/机器学习方法进行高效处理。基于深度学习的图像分割与定量分析管道已在类器官生长动态监测中表现出卓越性能,为自动化、高通量的表型评估提供了可靠工具^[124]。同时,AI驱动的多组学数据整合算法可用于构建肿瘤进展预测模型和药物敏感性评分模型,从而显著加快脑肿瘤研究进展并提高药物筛选效率^[125]。

5.2 临床转化路径

大脑类器官模拟脑肿瘤的临床转化路径是未来的重要发展方向。首先,建立由临床需求主导的研究框架,将BTOs模型直接应用于疗效评估与个体化治疗策略制定中。利用患者来源的GBM类器官作为“实时化身”,进行CAR-T细胞、靶向药物等多种治疗策略的同步体外测试,可快速反馈患者特异性疗效与耐药性信息,实现“试管内”筛选到临床决策的闭环^[23]。其次,通过患者衍生类器官预测化疗与放疗敏感性,可为临床个体化治疗提供有力证据支持^[126]。

此外,还应推动大脑类器官模型的生产与应用标准化,包括细胞来源鉴定、培养基配方、评价指标、质量控制等环节,确保不同实验室间模型的一致性与可重复性^[127]。在此基础上,开展覆盖多家机构的临床前和早期临床试验,系统验证类器官在脑肿瘤诊断、疗效评估和新药研发中的安全性与可行性,为其纳入临床指南和监管审批奠定坚实基础^[128]。技

术创新与转化路径的协同推进,未来大脑类器官在脑肿瘤研究领域将成为无可替代的“活体模拟平台”,加快精准医疗和新药开发步伐,为攻克这一高致死率疾病提供全新思路与手段。

5.3 脑肿瘤研究中类器官的跨学科合作

脑肿瘤研究中类器官的跨学科合作前景十分广阔。类器官技术涉及生物学、医学、工程学等多个学科领域,跨学科合作能够整合各学科的优势资源,推动脑肿瘤研究的深入发展。

工程学领域的微流控芯片技术可以在纳升级尺度上精确控制培养基流速与化学梯度,实现类器官内微环境(如氧分压、养分供应)的精细调控;同时,光学微流控芯片结合实时成像,可监测肿瘤细胞在三维结构内的动态行为,为研究肿瘤侵袭和转移机制提供直观数据^[129]。此外,先进的体积生物打印技术利用医学断层扫描(CT/MRI)数据作为“打印蓝图”,可快速、精准地构建带有复杂血管和基质结构的类器官模型;结合光学相干断层扫描和多光子显微镜等成像手段,可在打印后实时评估模型的空间结构与细胞分布^[130-131]。同时,类器官培养生成的大规模图像、转录组和蛋白组数据,需要基于深度学习的图像分割、自动特征提取和多组学融合算法来高效分析。人工智能驱动预测模型不仅能评估药物敏感性,还可模拟肿瘤进展路径,为个体化治疗方案提供数据支持^[129]。通过这些跨学科协同,不仅能够脑肿瘤发病机制、药物研发和个性化治疗等方面取得突破,还将加快类器官模型的标准化和工业化进程,推动其早日走向临床应用。

参考文献 (References)

- [1] BRAY F, LAVERSANNE M, SUNG H, et al. Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries [J]. CA Cancer J Clin, 2024, 74(3): 229-63.
- [2] SINGH S, CHOKSHI C, SHAIKH V, et al. Abstract 60: functional mapping of glioblastoma recurrence reveals targetable dependencies in an axonal guidance pathway in highly invasive brain cancers [J]. Cancer Research, 2024, 84(6_Supplement): 458-86.
- [3] DAS A, BIANCHI V, EDWARDS M, et al. MBRS-54. Poor survival in replication repair deficient hypermutant medulloblastoma and CNS embryonal tumors: a report from the international rrd consortium [J]. Neuro-Oncology, 2020, 22(Suppl 3): iii407.
- [4] NOWOGRODZKI J. How cerebral organoids are guiding brain-cancer research and therapies [J]. Nature, 2018, 561(7724): S48-S9.

- [5] XU S, TANG L, LI X, et al. Immunotherapy for glioma: current management and future application [J]. *Cancer Lett*, 2020, 476: 1-12.
- [6] GILLET J P, CALCAGNO A M, VARMA S, et al. Redefining the relevance of established cancer cell lines to the study of mechanisms of clinical anti-cancer drug resistance [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108(46): 18708-13.
- [7] ZANDERS E D, SVENSSON F, BAILEY D S. Therapy for glioblastoma: is it working [J]? *Drug Discov Today*, 2019, 24(5): 1193-201.
- [8] DHANDAPANI H, SIDDIQUI A, KARADKAR S, et al. *In vitro* 3d spheroid model preserves tumor microenvironment of hot and cold breast cancer subtypes [J]. *Adv Healthc Mater*, 2023, 12(21): e2300164.
- [9] LIU Y, WU W, CAI C, et al. Patient-derived xenograft models in cancer therapy: technologies and applications [J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2023, 8(1): 160.
- [10] XU H, JIA Z, LIU F, et al. Biomarkers and experimental models for cancer immunology investigation [J]. *MedComm*, 2023, 4(6): e437.
- [11] LANCASTER M A, RENNER M, MARTIN C A, et al. Cerebral organoids model human brain development and microcephaly [J]. *Nature*, 2013, 501(7467): 373-9.
- [12] HUBERT C G, RIVERA M, SPANGLER L C, et al. A three-dimensional organoid culture system derived from human glioblastomas recapitulates the hypoxic gradients and cancer stem cell heterogeneity of tumors found *in vivo* [J]. *Cancer Res*, 2016, 76(8): 2465-77.
- [13] BLANDINO G, SATCHI-FAINARO R, TINHOFFER I, et al. Cancer organoids as reliable disease models to drive clinical development of novel therapies [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2024, 43(1): 334.
- [14] KRIEGER T G, TIRIER S M, PARK J, et al. Modeling glioblastoma invasion using human brain organoids and single-cell transcriptomics [J]. *Neuro Oncol*, 2020, 22(8): 1138-49.
- [15] BIAN S, REPIC M, GUO Z, et al. Genetically engineered cerebral organoids model brain tumor formation [J]. *Nat Methods*, 2018, 15(8): 631-9.
- [16] KOH I, HAGIWARA M. Modular tissue-in-a-CUBE platform to model blood-brain barrier (BBB) and brain interaction [J]. *Commun Biol*, 2024, 7(1): 177.
- [17] ZHAO Y, WANG T, LIU J, et al. Emerging brain organoids: 3D models to decipher, identify and revolutionize brain [J]. *Bioact Mater*, 2025, 47: 378-402.
- [18] EICHMULLER O L, CORSINI N S, VERTESY A, et al. Amplification of human interneuron progenitors promotes brain tumors and neurological defects [J]. *Science*, 2022, 375(6579): eabf5546.
- [19] ANASTASAKI C, WEGSCHEID M L, HARTIGAN K, et al. Human iPSC-derived neurons and cerebral organoids establish differential effects of germline *nfl* gene mutations [J]. *Stem Cell Reports*, 2020, 14(4): 541-50.
- [20] LI Y, WU W, YAO J, et al. Patient-derived tumor organoids: a platform for precision therapy of colorectal cancer [J]. *Cell Transplant*, 2025, 34: 9636897251314645.
- [21] SUNDAR S J, SHAKYA S, BARNETT A, et al. Three-dimensional organoid culture unveils resistance to clinical therapies in adult and pediatric glioblastoma [J]. *Transl Oncol*, 2022, 15(1): 101251.
- [22] JACOB F, MING G L, SONG H. Generation and biobanking of patient-derived glioblastoma organoids and their application in CAR T cell testing [J]. *Nat Protoc*, 2020, 15(12): 4000-33.
- [23] LOGUN M, WANG X, SUN Y, et al. Patient-derived glioblastoma organoids as real-time avatars for assessing responses to clinical CAR-T cell therapy [J]. *Cell Stem Cell*, 2025, 32(2): 181-90.e4.
- [24] JACOB F, SALINAS R D, ZHANG D Y, et al. A patient-derived glioblastoma organoid model and biobank recapitulates inter- and intra-tumoral heterogeneity [J]. *Cell*, 2020, 180(1): 188-204.e22.
- [25] FRISIRA E, RASHID F, VARMA S N, et al. NPI-0052 and gamma-radiation induce a synergistic apoptotic effect in medulloblastoma [J]. *Cell Death Dis*, 2019, 10(11): 785.
- [26] LAGO C, FEDERICO A, LEVA G, et al. Patient- and xenograft-derived organoids recapitulate pediatric brain tumor features and patient treatments [J]. *EMBO Mol Med*, 2023, 15(12): e18199.
- [27] GOU P, FANG C, XU M, et al. The dual HDAC/PI3K inhibitor CUDC-907 inhibits the growth and proliferation of MYC-driven Group 3 medulloblastoma [J]. *Cell Death Discov*, 2025, 11(1): 172.
- [28] LI Y, LIM C, DISMUKE T, et al. Suppressing recurrence in Sonic Hedgehog subgroup medulloblastoma using the OLIG2 inhibitor CT-179 [J]. *Nat Commun*, 2025, 16(1): 1091.
- [29] ABDULLAH K G, BIRD C E, BUEHLER J D, et al. Establishment of patient-derived organoid models of lower-grade glioma [J]. *Neuro Oncol*, 2022, 24(4): 612-23.
- [30] GOLEBIEWSKA A, HAU A C, OUDIN A, et al. Patient-derived organoids and orthotopic xenografts of primary and recurrent gliomas represent relevant patient avatars for precision oncology [J]. *Acta Neuropathol*, 2020, 140(6): 919-49.
- [31] ZHANG Y, SHAO Y, LI Y, et al. The generation of glioma organoids and the comparison of two culture methods [J]. *Cancer Med*, 2024, 13(4): e7081.
- [32] KHOLOS Y W M, DERIEPPE M, VAN DEN HAM F, et al. Neuroblastoma and DIPG organoid coculture system for personalized assessment of novel anticancer immunotherapies [J]. *J Pers Med*, 2021, 11(9): 869.
- [33] RALEIGH D, MIRCHIA K, OTEN S, et al. Spatial synaptic connectivity underlies oligodendroglioma evolution and recurrence [J]. *Res Sq*, 2025, doi: 10.21203/rs.3.rs-6299872/v1.
- [34] CHAN H S C, NG H K, CHAN A K, et al. Establishment and characterization of meningioma patient-derived organoid [J]. *J Clin Neurosci*, 2021, 94: 192-9.
- [35] OGAWA J, PAO G M, SHOKHIREV M N, et al. Glioblastoma model using human cerebral organoids [J]. *Cell Rep*, 2018, 23(4): 1220-9.
- [36] KIM H M, LEE S H, LIM J, et al. The epidermal growth factor receptor variant type III mutation frequently found in gliomas induces astrogenesis in human cerebral organoids [J]. *Cell Prolif*, 2021, 54(2): e12965.
- [37] WANG C, SUN M, SHAO C, et al. A multidimensional atlas of human glioblastoma-like organoids reveals highly coordinated molecular networks and effective drugs [J]. *NPJ Precis Oncol*, 2024, 8(1): 19.
- [38] ISHAHAK M, HAN R H, ANNAMALAI D, et al. Genetically engineered brain organoids recapitulate spatial and developmen-

- tal states of glioblastoma progression [J]. *Adv Sci*, 2025, 12(10): e2410110.
- [39] BALLABIO C, ANDERLE M, GIANESELLO M, et al. Modeling medulloblastoma *in vivo* and with human cerebellar organoids [J]. *Nat Commun*, 2020, 11(1): 583.
- [40] CONTENTI J, GUO Y, MAZZU A, et al. The mitochondrial NADH shuttle system is a targetable vulnerability for group 3 medulloblastoma in a hypoxic microenvironment [J]. *Cell Death Dis*, 2023, 14(11): 784.
- [41] VAN ESSEN M J, APSLEY E J, RIEPSAAME J, et al. PTCH1-mutant human cerebellar organoids exhibit altered neural development and recapitulate early medulloblastoma tumorigenesis [J]. *Dis Model Mech*, 2024, 17(2): dmm050323.
- [42] PARISIAN A D, KOGA T, MIKI S, et al. SMARCB1 loss interacts with neuronal differentiation state to block maturation and impact cell stability [J]. *Genes Dev*, 2020, 34(19/20): 1316-29.
- [43] KRATZ C P. Re-envisioning genetic predisposition to childhood and adolescent cancers [J]. *Nat Rev Cancer*, 2025, 25(2): 109-28.
- [44] VERSTEGEN M M A, COPPES R P, BEGHIN A, et al. Clinical applications of human organoids [J]. *Nat Med*, 2025, 31(2): 409-21.
- [45] LINKOUS A, BALAMATSIAS D, SNUDERL M, et al. Modeling patient-derived glioblastoma with cerebral organoids [J]. *Cell Rep*, 2019, 26(12): 3203-11, e5.
- [46] TAUBENSCHMID-STOWERS J, ORTHOFER M, LAEMMERER A, et al. A whole-genome scan for artemisinin cytotoxicity reveals a novel therapy for human brain tumors [J]. *EMBO Mol Med*, 2023, 15(3): e16959.
- [47] SINGH S K, WANG Y, HABIB A, et al. TP53-PTEN-NF1 depletion in human brain organoids produces a glioma phenotype *in vitro* [J]. *Front Oncol*, 2023, 13: 1279806.
- [48] ANDRADE A F, CHEN C C L, JABADO N. Oncohistones in brain tumors: the soil and seed [J]. *Trends Cancer*, 2023, 9(5): 444-55.
- [49] SINHA S, HUANG M S, MIKOS G, et al. Laminin-associated integrins mediate diffuse intrinsic pontine glioma infiltration and therapy response within a neural assembloid model [J]. *Acta Neuropathol Commun*, 2024, 12(1): 71.
- [50] PRIOR V G, MAKSOOR S, MIELLET S, et al. Parsing the effect of co-culture with brain organoids on diffuse intrinsic pontine glioma (DIPG) using quantitative proteomics [J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2024, 174: 106617.
- [51] FUNATO K, SMITH R C, SAITO Y, et al. Dissecting the impact of regional identity and the oncogenic role of human-specific NOTCH2NL in an hESC model of H3.3G34R-mutant glioma [J]. *Cell Stem Cell*, 2021, 28(5): 894-905, e7.
- [52] SALEH A H, SAMUEL N, JURASCHKA K, et al. The biology of ependymomas and emerging novel therapies [J]. *Nat Rev Cancer*, 2022, 22(4): 208-22.
- [53] ROOSEN M, MORSCIO J, STATHI P, et al. EPEN-17. *In vitro* modelling of pediatric supratentorial ependymomas using cerebral organoids [J]. *Neuro Oncol*, 2024, doi:10.1093/neuonc/noae064.219.
- [54] DELIGNE C, TOURBEZ A, BENARD F, et al. Establishing a living biobank of pediatric high-grade glioma and ependymoma suitable for cancer pharmacology [J]. *Neuro Oncol*, 2025, 27(5): 1325-40.
- [55] KIANG K M, WONG Y K H, SENGUPTA S, et al. Developmental origins and oncogenesis in medulloblastoma [J]. *Annu Rev Neurosci*, 2025, 48(1): 85-102.
- [56] TAO R, HAN K, WU S C, et al. Arrested development: the dysfunctional life history of medulloblastoma [J]. *Genes Dev*, 2025, 39(1/2): 4-17.
- [57] WILLOTT T, NICHOLSON J G, XIAO Y, et al. Modelling medulloblastoma pathogenesis and treatment in human cerebellar organoids [J]. *Neuro-Oncology Pediatrics*, 2025, 1(Suppl 1): wuaf001.212.
- [58] VAN ESSEN M J, NICHEPEROVICH A, SCHUSTER-BOCKLER B, et al. Sonic hedgehog medulloblastoma cells in co-culture with cerebellar organoids converge towards *in vivo* malignant cell states [J]. *Neurooncol Adv*, 2025, 7(1): vdae218.
- [59] FERREIRA R S, JANDREY E H F, GRANHA I, et al. Differential replication and oncolytic effects of Zika virus in aggressive CNS tumor cells: insights from organoid and tumoroid models [J]. *Viruses*, 2024, 16(11): 1764.
- [60] SIEGEL R L, KRATZER T B, GIAQUINTO A N, et al. Cancer statistics, 2025 [J]. *CA Cancer J Clin*, 2025, 75(1): 10-45.
- [61] LOUIS D N, PERRY A, WESSELING P, et al. The 2021 WHO classification of tumors of the central nervous system: a summary [J]. *Neuro Oncol*, 2021, 23(8): 1231-51.
- [62] YAMAZAKI S, OHKA F, HIRANO M, et al. Newly established patient-derived organoid model of intracranial meningioma [J]. *Neuro Oncol*, 2021, 23(11): 1936-48.
- [63] HUANG M, XU S, LI Y, et al. Novel human meningioma organoids recapitulate the aggressiveness of the initiating cell subpopulations identified by ScRNA-Seq [J]. *Adv Sci*, 2023, 10(15): e2205525.
- [64] KIM D, PARK J, PARK H C, et al. Establishment of tumor microenvironment-preserving organoid model from patients with intracranial meningioma [J]. *Cancer Cell Int*, 2024, 24(1): 36.
- [65] ZOHDY Y M, JAHANGIRI A, JACOB F, et al. Patient-derived meningioma organoids: a reliable model for studying human tumor pathophysiology [J]. *Cancers*, 2025, 17(3): 526.
- [66] JEREMIASSE B, VAN INEVELD R L, BOK V, et al. A multi-spectral 3D live organoid imaging platform to screen probes for fluorescence guided surgery [J]. *EMBO Mol Med*, 2024, 16(7): 1495-514.
- [67] RADKE K, HANSSON K, SJOLUND J, et al. Anti-tumor effects of rigosertib in high-risk neuroblastoma [J]. *Transl Oncol*, 2021, 14(8): 101149.
- [68] REDDEN R A, DOOLIN E J. Microgravity assay of neuroblastoma: *in vitro* aggregation kinetics and organoid morphology correlate with MYCN expression [J]. *In Vitro Cell Dev Biol Anim*, 2011, 47(4): 312-7.
- [69] GAVIN C, GEERTS N, CAVANAGH B, et al. Neuroblastoma invasion strategies are regulated by the extracellular matrix [J]. *Cancers*, 2021, 13(4): 736.
- [70] FUSCO P, PARISATTO B, RAMPAZZO E, et al. Patient-derived organoids (PDOs) as a novel *in vitro* model for neuroblastoma tumours [J]. *BMC Cancer*, 2019, 19(1): 970.
- [71] LANGENBERG K P S, VAN HOOFF S R, KOOPMANS B, et al. Exploring high-throughput drug sensitivity testing in neuroblastoma cell lines and patient-derived tumor organoids in the era of precision medicine [J]. *Eur J Cancer*, 2025, 218: 115275.
- [72] PAASSEN I, WILLIAMS J, RIOS ARCEO C, et al. Atypical

- teratoid/rhabdoid tumoroids reveal subgroup-specific drug vulnerabilities [J]. *Oncogene*, 2023, 42(20): 1661-71.
- [73] LOONG H H, WONG A M, CHAN D T, et al. Patient-derived tumor organoid predicts drugs response in glioblastoma: a step forward in personalized cancer therapy [J]? *J Clin Neurosci*, 2020, 78: 400-2.
- [74] RATLIFF M, KIM H, QI H, et al. Patient-derived tumor organoids for guidance of personalized drug therapies in recurrent glioblastoma [J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(12): 6572.
- [75] SHAKYA S, GROMOVSKY A D, HALE J S, et al. Altered lipid metabolism marks glioblastoma stem and non-stem cells in separate tumor niches [J]. *Acta Neuropathol Commun*, 2021, 9(1): 101.
- [76] CHEN C C, LI H W, WANG Y L, et al. Patient-derived tumor organoids as a platform of precision treatment for malignant brain tumors [J]. *Sci Rep*, 2022, 12(1): 16399.
- [77] LEBLANC V G, TRINH D L, ASLANPOUR S, et al. Single-cell landscapes of primary glioblastomas and matched explants and cell lines show variable retention of inter- and intratumor heterogeneity [J]. *Cancer Cell*, 2022, 40(4): 379-92, e9.
- [78] SHEKARIAN T, ZINNER C P, BARTOSZEK E M, et al. Immunotherapy of glioblastoma explants induces interferon-gamma responses and spatial immune cell rearrangements in tumor center, but not periphery [J]. *Sci Adv*, 2022, 8(26): eabn9440.
- [79] MORELLI M, LESSI F, BARACHINI S, et al. Metabolic-imaging of human glioblastoma live tumors: a new precision-medicine approach to predict tumor treatment response early [J]. *Front Oncol*, 2022, 12: 969812.
- [80] VERDUIN M, HOOSEMANS L, VANMECHELEN M, et al. Patient-derived glioblastoma organoids reflect tumor heterogeneity and treatment sensitivity [J]. *Neurooncol Adv*, 2023, 5(1): vdad152.
- [81] FAN Q, WANG H, GU T, et al. Modeling the precise interaction of glioblastoma with human brain region-specific organoids [J]. *iScience*, 2024, 27(3): 109111.
- [82] CHOE M S, KIM J S, YEO H C, et al. A simple metastatic brain cancer model using human embryonic stem cell-derived cerebral organoids [J]. *FASEB J*, 2020, 34(12): 16464-75.
- [83] GORANCI-BUZHALA G, MARIAPPAN A, GABRIEL E, et al. Rapid and efficient invasion assay of glioblastoma in human brain organoids [J]. *Cell Rep*, 2020, 31(10): 107738.
- [84] BHADURI A, DI LULLO E, JUNG D, et al. Outer radial glia-like cancer stem cells contribute to heterogeneity of glioblastoma [J]. *Cell Stem Cell*, 2020, 26(1): 48-63, e6.
- [85] LANCASTER M A, KNOBLICH J A. Organogenesis in a dish: modeling development and disease using organoid technologies [J]. *Science*, 2014, 345(6194): 1247125.
- [86] MITCHELL K, SPROWLS S A, ARORA S, et al. WDR5 represents a therapeutically exploitable target for cancer stem cells in glioblastoma [J]. *Genes Dev*, 2023, 37(3/4): 86-102.
- [87] MAJC B, HABIC A, MALAVOLTA M, et al. Patient-derived tumor organoids mimic treatment-induced DNA damage response in glioblastoma [J]. *iScience*, 2024, 27(9): 110604.
- [88] MANN B, ARTZ N, DARAWSHEH R, et al. Opportunities and challenges for patient-derived models of brain tumors in functional precision medicine [J]. *NPJ Precis Oncol*, 2025, 9(1): 47.
- [89] PENG T P, MA X J, HUA W, et al. Individualized patient tumor organoids faithfully preserve human brain tumor ecosystems and predict patient response to therapy [J]. *Cell Stem Cell*, 2025, 32(4): 652-69.
- [90] NEAL J T, LI X N, ZHU J J, et al. Organoid modeling of the tumor immune microenvironment [J]. *Cell*, 2018, 175(7): 1972-88, e16.
- [91] SONG E Z, WANG X, PHILIPSON B I, et al. The IAP antagonist birinapant enhances chimeric antigen receptor T cell therapy for glioblastoma by overcoming antigen heterogeneity [J]. *Mol Ther Oncolytics*, 2022, 27: 288-304.
- [92] MARTINS P, D'SOUZA R C J, SKARNE N, et al. EphA3 CAR T cells are effective against glioblastoma in preclinical models [J]. *J Immunother Cancer*, 2024, 12(8): e009403.
- [93] DARRIGUES E, ZHAO E H, DE LOOSE A, et al. Biobanked glioblastoma patient-derived organoids as a precision medicine model to study inhibition of invasion [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(19): 10720.
- [94] ZUO M, ZHANG S, CHEN S, et al. Glioma-associated fibroblasts promote glioblastoma resistance to temozolomide through CCL2-CCR2 paracrine signaling [J]. *bioRxiv*, 2024, <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2024.03.05.581575v1>.
- [95] POWLEY I R, PATEL M, MILES G, et al. Patient-derived explants (PDEs) as a powerful preclinical platform for anti-cancer drug and biomarker discovery [J]. *Br J Cancer*, 2020, 122(6): 735-44.
- [96] CHOI S Y, LIN D, GOUT P W, et al. Lessons from patient-derived xenografts for better *in vitro* modeling of human cancer [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2014, 79-80: 222-37.
- [97] BAGHBAN R, ROSHANGAR L, JAHANBAN-ESFAHLAN R, et al. Tumor microenvironment complexity and therapeutic implications at a glance [J]. *Cell Commun Signal*, 2020, 18(1): 59.
- [98] HASLAM A, GILL J, PRASAD V. The response rate of alternative treatments for drugs approved on the basis of response rate [J]. *Int J Cancer*, 2021, 148(3): 713-22.
- [99] VAN DER WOUDE H, PHAN K, KENWRIGHT D N, et al. Development of a long term, *ex vivo*, patient-derived explant model of endometrial cancer [J]. *PLoS One*, 2024, 19(4): e0301413.
- [100] MENDES R, GRACA G, SILVA F, et al. Exploring metabolic signatures of *ex vivo* tumor tissue cultures for prediction of chemosensitivity in ovarian cancer [J]. *Cancers*, 2022, 14(18): 4460.
- [101] DEMETRIOU C, ABID N, BUTTERWORTH M, et al. An optimised patient-derived explant platform for breast cancer reflects clinical responses to chemotherapy and antibody-directed therapy [J]. *Sci Rep*, 2024, 14(1): 12833.
- [102] COLLINS A, MILES G J, POWLEY I R, et al. Development of a patient-derived explant model for prediction of drug responses in endometrial cancer [J]. *Gynecol Oncol*, 2021, 160(2): 557-67.
- [103] MULDER L A, DEPLA J A, SRIDHAR A, et al. A beginner's guide on the use of brain organoids for neuroscientists: a systematic review [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2023, 14(1): 87.
- [104] ZHAO H H, HADDAD G. Brain organoid protocols and limitations [J]. *Front Cell Neurosci*, 2024, 18: 1351734.
- [105] PAGLIARO A, ANDREATTA F, FINGER R, et al. Generation of human fetal brain organoids and their CRISPR engineering for brain tumor modeling [J]. *Nat Protoc*, 2025, 20(7): 1846-83.
- [106] KIM J I, IMAIZUMI K, JURJUT O, et al. Human assembloid model of the ascending neural sensory pathway [J]. *Nature*, 2025,

- 642(8066): 143-53.
- [107] CASTIGLIONE H, VIGNERON P A, BAQUERRE C, et al. Human brain organoids-on-chip: advances, challenges, and perspectives for preclinical applications [J]. *Pharmaceutics*, 2022, 14(11): 2301.
- [108] YANG R, QI Y, ZHANG X, et al. Living biobank: standardization of organoid construction and challenges [J]. *Chin Med J*, 2024, 137(24): 3050-60.
- [109] SANDOVAL S O, CAPPUCCIO G, KRUTH K, et al. Rigor and reproducibility in human brain organoid research: where we are and where we need to go [J]. *Stem Cell Reports*, 2024, 19(6): 796-816.
- [110] CARTER E P, ROOZITALAB R, GIBSON S V, et al. Tumour microenvironment 3D-modelling: simplicity to complexity and back again [J]. *Trends Cancer*, 2021, 7(11): 1033-46.
- [111] WANG Q, YUAN F, ZUO X, et al. Breakthroughs and challenges of organoid models for assessing cancer immunotherapy: a cutting-edge tool for advancing personalised treatments [J]. *Cell Death Discov*, 2025, 11(1): 222.
- [112] BONNET V, ANGELIDAKIST E, SART S, et al. Microfluidic and organ-on-a-chip approaches to model the tumor microenvironment [J]. *Curr Opin Biomed Eng*, 2025, doi:10.1016/j.cobme.2025.100606.
- [113] NEAL J T, LI X, ZHU J, et al. Organoid modeling of the tumor immune microenvironment [J]. *Cell*, 2018, 175(7): 1972-88, e16.
- [114] SHIRURE V S, HUGHES C C W, GEORGE S C. Engineering vascularized organoid-on-a-chip models [J]. *Annu Rev Biomed Eng*, 2021, 23: 141-67.
- [115] DIJKSTRA K K, CATTANEO C M, WEEBER F, et al. Generation of tumor-reactive T cells by co-culture of peripheral blood lymphocytes and tumor organoids [J]. *Cell*, 2018, 174(6): 1586-98, e12.
- [116] LORENZO-MARTIN L F, BROGUIERE N, LANGER J, et al. Patient-derived mini-colons enable long-term modeling of tumor-microenvironment complexity [J]. *Nat Biotechnol*, 2025, 43(5): 727-36.
- [117] MAREI H E. Stem cell therapy: a revolutionary cure or a Pandora's box [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2025, 16(1): 255.
- [118] HYUN I, SCHARF-DEERING J C, LUNSHOF J E. Ethical issues related to brain organoid research [J]. *Brain Res*, 2020, 1732: 146653.
- [119] DE JONGH D, MASSEY E K, CONSORTIUM V, et al. Organoids: a systematic review of ethical issues [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2022, 13(1): 337.
- [120] PALMER X, AKAFIA C, WOODSON E, et al. Organoids, bio-cybersecurity, and cyberbiosecurity: a light exploration [J]. *Organoids*, 2024, 3(2): 83-112.
- [121] ANDREATTA F, HENDRIKS D, ARTEGIANI B. Human organoids as an emerging tool for genome screenings [J]. *Annu Rev Biomed Eng*, 2025, 27(1): 157-83.
- [122] MUKHARE R, GANDHI K A, KADAM A, et al. Integration of organoids with CRISPR screens: a narrative review [J]. *Biol Cell*, 2025, 117(4): e70006.
- [123] YU K K H, BASU S, BAQUER G, et al. Investigative needle core biopsies support multimodal deep-data generation in glioblastoma [J]. *Nat Commun*, 2025, 16(1): 3957.
- [124] SCHROTER J, DEININGER L, LUPSE B, et al. A large and diverse brain organoid dataset of 1,400 cross-laboratory images of 64 trackable brain organoids [J]. *Sci Data*, 2024, 11(1): 514.
- [125] BAI L, WU Y, LI G, et al. AI-enabled organoids: construction, analysis, and application [J]. *Bioact Mater*, 2024, 31: 525-48.
- [126] PENG T, MA X, HUA W, et al. Individualized patient tumor organoids faithfully preserve human brain tumor ecosystems and predict patient response to therapy [J]. *Cell Stem Cell*, 2025, 32(4): 652-69, e11.
- [127] SKARNE N, D'SOUZA R C J, PALETHORPE H M, et al. Personalising glioblastoma medicine: explant organoid applications, challenges and future perspectives [J]. *Acta Neuropathol Commun*, 2025, 13(1): 6.
- [128] CORREIA C D, CALADO S M, MATOS A, et al. Advancing glioblastoma research with innovative brain organoid-based models [J]. *Cells*, 2025, 14(4): 292.
- [129] BAI L, JING Y, REIS R L, et al. Organoid research: theory, technology, and therapeutics [J]. *OR*, 2025, 1(1): 025040007.
- [130] AWUAH W A, KARKHANIS S, BEN-JAAFAR A, et al. Recent advances in 3D printing applications for CNS tumours [J]. *Eur J Med Res*, 2025, 30(1): 251.
- [131] CUI X, JIAO J, YANG L, et al. Advanced tumor organoid bio-printing strategy for oncology research [J]. *Mater Today Bio*, 2024, 28: 101198.