

肠道类器官在宿主-微生物互作研究中的应用进展

刘铨民 黄萍 谭晶晶 于滢萱 邓轶方*

(中国医药工业研究总院先导物成药性研究全国重点实验室, 上海 200437)

摘要 肠道是人体重要的多功能器官, 其与微生物群的互作在维持机体健康中发挥关键作用。传统研究模型存在显著局限性, 难以准确反映人体肠道环境。肠道类器官(intestinal organoid, IO)具有与肠道上皮相似的组成、结构与功能, 且能一定程度维持原发组织的生理特征, 已成为研究宿主-微生物互作(host-microbe interaction, HMI)富有潜力的平台。该文主要就IO模型的研究进展、其在HMI研究中的应用以及其当前面临的挑战与应对策略进行系统综述, 以为相关机制研究提供科学参考。

关键词 类器官; 肠道微生物; 药物筛选; 个性化医疗

Advances in the Application of Intestinal Organoids to Host-Microbe Interaction Studies

LIU Quanmin, HUANG Ping, TAN Jingjing, YU Yingxuan, DENG Yifang*

(The National Key Laboratory of Lead Drugability Research, China State Institute of Pharmaceutical Industry, Shanghai 200437, China)

Abstract Intestine is an important multifunctional organ of human body, and its interaction with microorganism plays a key role in maintaining human health. The traditional research model has obvious limitations, and it is difficult to accurately reflect the human intestinal environment. IO (intestinal organoid) has similar composition, structure and function to intestinal epithelium, and can maintain the physiological characteristics of primary tissues to a certain extent, which has become a potential platform for studying HMI (host-microbe interaction). This paper mainly summarizes the research progress of IO model, its application in HMI research, the current challenges it faces and coping strategies, in order to provide scientific reference for related mechanism research.

Keywords organoids; gut microbiota; drug screening; personalized medicine

肠道是人体重要的多功能器官, 不仅具有消化、吸收、代谢、排泄等生理功能, 还能通过生物屏障与免疫系统有效抵御外来有害物质。此外, 肠道能够调节多种激素的释放, 这些激素可通过脑-肠轴影响食欲、情绪、学习及认知等神经功能^[1]。肠道中生存着大量微生物, 它们与上皮细胞间动态且复杂的相互作用在辅助宿主降解膳食成分的同时, 还参与调控神经递质合成、氧化还原平衡及黏膜细胞基因表达, 对维持机体健康至关重要^[2]。尽管人类肠道微生物(gut microbiota, GM)组成存在显著的个

体差异, 其多样性下降与多种胃肠道疾病、系统性免疫疾病及肿瘤发生密切相关^[3]。

为揭示宿主与微生物在生理状态与病理过程中的互动机制, 研究人员应用了多种体内外模型。其中, 人结肠癌细胞系、大鼠小肠隐窝细胞系和猪小肠上皮细胞系常用于GM研究。在基础研究中, 这些细胞模型显示出低成本、高通量的优势。然而, 单一细胞系缺乏不同细胞间的相互作用, 难以重现肠道细胞在微生物刺激下的变化^[4]。无菌小鼠是公认的研究GM的“金标准”模型, 适用于长期评估肠道菌群对宿主肠道系统、生长发育及疾病发生发展的作用。然而, 物种差异显著、饲养成本高昂、宿主-微生物互作(host-microbe interaction, HMI)观测困难以及免

收稿日期: 2025-12-12 接受日期: 2026-02-27

*通信作者。Tel: 021-65041206, E-mail: dengyifang_dyf@163.com

Received: December 12, 2025 Accepted: February 27, 2026

*Corresponding author. Tel: +86-21-65041206, E-mail: dengyifang_dyf@163.com

表1 肠道类器官在HMI研究中的应用

Table 1 Applications of intestinal organoids in HMI research

微生物名称 Microorganism name	类型 Type	研究内容 Research content	参考文献 References
EHEC	Pathogenic bacteria	The specific pathogenic mechanism of EHEC	[27]
<i>Salmonella</i>	Pathogenic bacteria	The mechanism by which <i>Salmonella</i> invades the intestine	[29]
HuNoV	Viruses	Cultivation of HuNoV strains and how to inhibit their replication	[30]
HuNoV	Viruses	Phagocytic role of macrophages in HuNoV infection	[31]
SARS-CoV-2	Viruses	Confirmation that LO and CO can serve as disease models for studying SARS-CoV-2 infection	[32]
SARS-CoV-2	Viruses	Differences in SARS-CoV-2 replication levels are primarily influenced by ACE2 receptor	[33]
LGG	Probiotics	The various probiotic effects and mechanisms of LGG	[34]
<i>L. reuteri</i>	Probiotics	<i>L. reuteri</i> can activate the Wnt/ β -catenin signaling pathway to enhance the intestinal physical barrier	[35]
<i>L. reuteri</i>	Probiotics	Surface components and metabolites of <i>L. reuteri</i> can induce dendritic cells to secrete IL-10	[36]
EcN	Probiotics	EcN has potential mutagenic activity	[38]
<i>L. gallinarum</i>	Probiotics	The anti-tumor potential of <i>L. gallinarum</i>	[41]

EHEC: 肠出血性大肠杆菌; *L. reuteri*: 罗伊氏乳杆菌; *L. gallinarum*: 鸡乳杆菌; HuNoV: 人类诺如病毒; LO: 肺类器官; CO: 结肠类器官; SARS-CoV-2: 严重急性呼吸系统综合征冠状病毒2; ACE2: 血管紧张素转换酶2; LGG: 鼠李糖乳杆菌GG; IL-10: 白细胞介素-10; EcN: 大肠杆菌Nissle 1917。

EHEC: enterohemorrhagic *Escherichia coli*; *L. reuteri*: *Lactobacillus reuteri*; *L. gallinarum*: *Lactobacillus gallinarum*; HuNoV: human norovirus; LO: lung organoid; CO: colon organoid; SARS-CoV-2: severe acute respiratory syndrome coronavirus 2; ACE2: angiotensin-converting enzyme 2; LGG: *Lactobacillus rhamnosus* GG; IL-10: interleukin-10; EcN: *Escherichia coli* Nissle 1917.

疫缺陷等问题,使得体内模型在实际应用中受限^[5]。

鉴于传统模型在HMI研究中的不足,亟需建立能够真实反映肠道结构与功能的新模型。2009年,SATO等^[6]发现小肠隐窝中的*Lgr5*⁺干细胞可启动具有隐窝-绒毛结构的肠类器官的生长,并以此成功构建肠道上皮类器官。肠道类器官(intestinal organoid, IO)是组成、结构及功能与肠上皮组织相似的三维(three-dimensional, 3D)细胞团,包含能够增殖分化的干细胞、吸收营养的肠上皮细胞、产生激素的肠内分泌细胞、分泌黏液的杯状细胞以及释放抗菌肽的潘氏细胞等^[7]。IO模型的建立为HMI研究提供了富有潜力的新平台(表1)。本文将从构建策略、模型优化与功能提升等方面,综述IO模型当前的研究进展,并讨论其在HMI研究中的应用,最后针对该模型面临的挑战与未来发展路径进行总结与展望。

1 肠道类器官的研究进展

IO模型因能高度重现肠道的多细胞生态系统,被视为研究HMI的理想体外平台,全面梳理其构建策略、功能优化与技术突破等方面的研究进展有助于加深对IO的了解,对推动其在机制研究与临床转

化中的应用也具有重要意义。

1.1 构建与培养

IO是研究最深入的类器官之一,主要由器官特异性成体干细胞或多能干细胞(包括诱导型和胚胎型干细胞)衍生而来。其技术的关键在于有效分离并维持干细胞的活性与功能,当包埋于细胞外基质并接受适当的生化刺激时,这些干细胞可自组织形成类似肠道的微小3D结构,并保持自我更新与多系分化的特性^[8]。

细胞外基质是培养类器官的结构和功能性分子网络,由组织或器官中多种细胞分泌的基质蛋白构成,内含胶原蛋白、弹性蛋白、糖胺聚糖、层粘连蛋白、纤连蛋白、透明质酸等生物活性物质,不仅能为干细胞的3D生长提供结构支撑,还参与调控细胞的增殖、分化、迁移、黏附等行为^[9]。基质胶(matrigel)是从小鼠肉瘤细胞中提取的胶状蛋白质混合物,因其可模拟体内细胞外基质微环境,且能在体外有效维持干细胞及类器官的结构与功能,被广泛用于IO培养。值得注意的是,基质胶成分复杂,所含蛋白质超过1 800种,且批次间差异显著,易影响实验结果的可重复性^[10]。因此,研究人员设计了全

合成水凝胶,其具有无动物源性、可调控、可扩展等诸多优点,为类器官培养标准化、工业化提供了技术支持^[11]。因而在不同研究中需选择合适的细胞外基质替代物(表2)。

在肠道生长发育过程中,不仅需要细胞外基质提供物理支撑与生化信号,还需要多种细胞因子参与信号通路的调控,以及营养物质的稳定供应。IO的培养通常以高糖DMEM/F12培养基为基础培养基,并添加R-spondin1、EGF和Noggin等生长因子,以促进干细胞的增殖、分化并维持IO的稳定^[6]。其中,R-spondin1是含有血小板反应蛋白结构域的蛋白,它作为Wnt信号通路激活剂,可通过稳定 β -catenin蛋白特异且强效地促进肠道隐窝细胞增殖^[12];EGF表达于未成熟的上皮细胞与相邻的成纤维细胞中,其调控的信号通路对维持干细胞增殖、抑制细胞凋亡及促进上皮分化至关重要^[13];Noggin作为内源性的BMP信号抑制剂,可通过抑制绒毛间质内BMP信号转导,促进异位隐窝结构的形成^[14]。

1.2 模型优化与功能提升

尽管IO模型在早期机制研究中展现出优势,其应用仍面临一些不可忽视的限制。传统IO在培养过程中会自组织为基底侧朝向外部基质,而具有吸收与分泌功能的顶侧则朝向中央封闭腔室的3D结构,并形成内含多种已分化细胞的出芽状隐窝和绒毛^[15]。这意味着,利用传统IO模型进行药物吸收、营养素摄取或病原体感染等研究时,存在外源物质难以直接接触顶侧表面,从而导致实验结果失真的风险。为解决封闭腔室结构带来的限制,研究人员设计了一种二维(two-dimensional, 2D) IO,该模型以富含干细胞、未出芽的3D球形结构作为起始材

料,通过逐步撤除干细胞因子加速细胞分化,最终形成2D的单层结构。该模型不仅允许外源物质直接接触类器官的顶侧和基底侧,也便于研究组织屏障功能变化^[16]。CO等^[17]通过简易高效的方法,制备出顶膜向外的IO模型;他们先用EDTA解聚基质胶中的层粘连蛋白,将类器官温和地释放出来,而后将其转移至超低吸附培养板中;在悬浮培养3天后,类器官顶侧实现向外翻转,该模型进一步拓展了IO在HMI研究中的应用前景。

在机体与微生物相互作用过程中,除上皮细胞构成的物理屏障外,免疫功能亦发挥着重要作用。然而,因缺乏能模拟体内微环境的培养系统,肠道上皮内淋巴细胞在分离后极易凋亡,这严重限制了其功能研究。NOZAKI等^[18]以IO作为支撑基质,联合IL-2、IL-7和IL-15等细胞因子,建立了能让肠道上皮内淋巴细胞长期存活、扩增并维持生理活性的3D共培养体系,填补了传统IO模型在免疫组分上的缺失。RECALDIN等^[19]将来自同一捐赠者的肠道上皮类器官与肠道组织驻留记忆T细胞共同培养,构建出含功能性免疫组分的人类肠道类器官(human intestinal organoid, HIO)。该模型中T细胞可自发地迁移并整合至肠道上皮类器官的上皮中,形成与上皮内淋巴细胞群落相似的结构,为人类HMI研究提供了高度生理相关的模型。

创新的免疫共培养体系提升了IO的生理相关性,但想要模拟真实人体肠道的复杂功能,还需引入器官芯片(organ-on-a-chip, OoC)这一革命性平台。OoC可引入流体剪切力、机械应变和多细胞区室等动态微环境,使静态培养的一类器官转变为具备生物力作用的微生理系统^[20]。SHIN等^[21]将患者来源的

表2 Matrigel与水凝胶的特点对比

Table 2 Comparison of properties between matrigel and fully synthetic hydrogel

方面 Aspect	基质胶 Matrigel	全合成水凝胶 Fully synthetic hydrogel
Source	Animal-derived	Fully artificial synthesis
Composition	Complex, containing various natural proteins and growth factors	Definable, chemically designable and modifiable
Standardization	High variability between batches	High controllability, conducive to standardization
Cultivation effect	Good, closely mimics the <i>in vivo</i> microenvironment	Requires optimization, but can be customized as needed
Application scenario	Basic research, initial organoid establishment	Standardized culture, industrialization, clinical translation
Clinical translation potential	Limited, due to animal origin and undefined components	High, with defined and controllable components

HIO与OoC技术结合, 开发出了具有生理流体动力特性的微流体装置。该设备不仅能模拟体内复杂的流体环境和机械拉伸, 还能在上皮屏障功能不受损害的同时, 实现IO与微生物组的稳定共培养, 为个性化研究患者HMI机制提供了技术支持。然而, 将3D类器官整合到OoC系统中还面临着灵活性差、操作复杂、效率低等问题。CARVALHO等^[22]设计了一种高度模块化的微流控类器官平台, 通过乐高式连接与可逆密封设计, 显著提升了类器官在OoC系统中的可操作性和实验效率。

与其他技术的迅猛发展并行, CRISPR-Cas9介导的基因组编辑技术进一步发掘了IO模型在基础研究领域的应用潜力。MARTINEZ-SILGADO等^[23]建立了标准化、可重复的实验流程, 用于HIO的培养、分化及CRISPR-Cas9基因编辑, 为研究肠道上皮细胞功能与疾病机制提供了高度可控的体外平台。BEUMER等^[24]将类器官模型、CRISPR-Cas9基因编辑与肽组学质谱分析技术结合, 揭示了人肠道内分泌细胞的多种蛋白酶在激素加工过程中的功能, 阐释了BMP信号调控前蛋白转化酶枯草溶菌素2(proprotein convertase subtilisin/kexin type 2, PCSK2)干预胰高血糖素生成的机制, 为探究肠道内分泌系统功能及相关疾病机制提供了新的研究思路。

2 肠道类器官在HMI研究中的应用

人类GM是功能复杂且数量庞大的群落, 在维持机体健康中扮演重要角色。研究发现, GM失调与神经退行性疾病、心血管疾病、代谢性疾病及胃肠道疾病等多种慢性病的发生发展密切相关^[25]。然而, 通过动物模型直接研究肠道病原体引起的肠道感染的病理机制具有挑战性, 且实验结果难以直接类推至人体。IO作为先进的体外模型, 其应用正促进针对GM的深入研究, 也为相关疾病的防治提供了新视角。

2.1 病原体感染机制研究

肠出血性大肠杆菌(enterohemorrhagic *Escherichia coli*, EHEC)是引起严重血性腹泻的主要病原体, 可进一步引发急性肾功能衰竭、溶血性尿毒症综合征等致命并发症^[26]。由多能干细胞体外分化形成的HIO, 在引入人中性粒细胞后, 可构建模拟机体大肠杆菌肠道感染及先天性免疫应答的模型。向该类器官管腔中接种的EHEC能快速增殖, 并在4 h内破坏肌动蛋白, 18 h后进一步破坏上皮的完整性。

深入研究发现, EHEC感染会刺激类器官促进活性氧释放, 进而诱导细菌的SOS反应并使其产生大量志贺毒素^[27]。

沙门氏菌(*Salmonella*)是全球食源性疾病的重要病原, 可经受污染的食物和水进入宿主体内, 引起肠胃炎和全身性疾病^[28]。DAMIGOS等^[29]以猪小肠黏膜下层为生物支架, 将人源单核细胞分化的巨噬细胞和成纤维细胞与HIO共培养, 形成具有免疫活性的肠道模型。加入*Salmonella*后, 他们发现在病菌感染初期, 细菌先黏附在糖蛋白2(glycoprotein 2, GP2)阳性的M样细胞表面, 并伴有黏液样物质产生; 在感染8 h后, 巨噬细胞开始吞噬细菌, 并释放IL-1 β 、TNF、IL-6、IL-8等促炎因子以及抗炎因子IL-10; 在感染后期, 受感染的上皮细胞被排出上皮层, 且部分细菌可重新侵入邻近细胞。该模型不仅高度模拟了肠道免疫功能, 还系统揭示了沙门氏菌侵入肠道的机制及免疫细胞的关键作用。

人类诺如病毒(human norovirus, HuNoV)是引发急性胃肠炎的主要病因, 其干预研究因缺乏可靠的体外培养系统而受限。ETTAYEBI等^[30]首次在非转化的HIO单层培养物中培养出HuNoV, 并发现胆汁对HuNoV的复制具有重要作用, 肠道细胞中适当的组织血型抗原表达缺失会限制病毒复制, 而病毒的感染性可经物理灭活或血清中和消除。LI等^[31]建立了一个稳定的HIO与巨噬细胞体外共培养模型, 用于研究HuNoV感染早期的上皮-免疫互作, 发现病毒选择性地在上皮细胞中复制并主要从顶端释放。他们还观察到所有巨噬细胞亚型均能识别并吞噬被感染的上皮细胞, 且M1促炎型巨噬细胞的吞噬能力最强。

在严重急性呼吸系统综合征冠状病毒2(severe acute respiratory syndrome coronavirus 2, SARS-CoV-2)引发的2019冠状病毒病(COVID-19)疫情全球爆发后, 亟需人源疾病相关模型, 以研究SARS-CoV-2的生物学特性, 并促进相关药物筛选。HAN等^[32]利用人类多能干细胞生成了肺类器官(lung organoid, LO)与结肠类器官(colon organoid, CO), 并证实LO和CO可作为研究SARS-CoV-2感染的疾病模型, 用于筛选COVID-19候选治疗药物。JANG等^[33]进一步发现, SARS-CoV-2在HIO中的复制水平表现出数量级的差异, 这主要取决于宿主细胞血管紧张素转换酶2(angiotensin-converting enzyme 2, ACE2)受体的基础表达量。该表达特征在类器官模型中保

留, 并与原代组织一致, 这或许能解释为何患者临床结局各不相同。

总之, IO是研究病原体感染机制的重要工具。因其细胞组成及结构与肠道上皮相似, 且构建技术成熟、培养体系相对标准化, 适用于研究病原体对肠道上皮细胞的直接损伤机制。但单一IO缺乏免疫细胞组分, 因此无法模拟感染中至关重要的免疫识别、免疫清除及免疫病理等环节。IO与免疫细胞共培养能重现更接近体内的免疫微环境, 可研究免疫细胞在病原体入侵过程中的作用以及其与上皮细胞的互作, 然而, 该技术尚处于发展阶段, 面临构建难度大、通量有限、重复性低等挑战。

2.2 益生菌作用机制研究

鼠李糖乳杆菌GG(*Lactobacillus rhamnosus* GG, LGG)是研究最深入, 应用最广泛的益生菌之一。WANG等^[34]研究发现, LGG可通过激活3型天然淋巴细胞与树突状细胞增强免疫功能和修复肠黏膜屏障, 从而有效抑制 *Salmonella* 的入侵和感染, 且该效应在类器官实验中得到了进一步证实。

罗伊氏乳杆菌(*Limosilactobacillus reuteri*, *L. reuteri*)是人与动物肠道中常见的益生菌, 其不仅能够抑制致病菌生长, 还能通过调节肠道免疫系统, 降低机体感染风险。与IO共培养显示, 该菌可直接激活Wnt/ β -catenin信号通路, 上调肠道干细胞的增殖与分化水平, 加速上皮再生, 从而强化肠道物理屏障^[35]。此外, 其表面成分与代谢物可诱导树突状细胞分泌抗炎因子IL-10, 缓解炎症反应带来的损伤^[36]。

值得注意的是, 益生菌也可能具有双重作用。大肠杆菌Nissle 1917(*Escherichia coli* Nissle 1917, EcN)是从一战士兵的肠道菌群中分离获得的革兰氏阴性杆菌, 与印象中具有致病性的大肠杆菌不同, EcN是用于治疗肠炎性疾病的一种药用益生菌^[37]。一项体外研究显示, 在与IO共培养时, 包括EcN在内的多种携带聚酮合酶基因岛的大肠杆菌菌株均表现出不同程度的诱变活性^[38]。

2.3 在转化医学中的应用

IO模型不仅是研究HMI机制的有力工具, 还能为肠道疾病机制研究、药物筛选和个性化医疗的发展赋能。ELMENTAITE等^[39]对儿童克罗恩病患者HIO和离体组织进行单细胞RNA测序, 发现核苷酸结合寡聚化结构域蛋白2(nucleotide-binding oligomerization domain-containing protein 2, NOD2)

和肿瘤坏死因子 α 诱导蛋白3(TNF α -induced protein 3, TNFAIP3)信号通路在疾病发生发展中具有重要作用, 并观察到与上皮细胞功能障碍和免疫失调相关的转录特征。此外, 不同患者来源的HIO对同一微生物群在转录组水平和屏障功能上的反应无显著差异, 说明微生物组成是刺激上皮细胞的主要因素, 而非上皮细胞的疾病状态, 且溃疡性结肠炎患者来源的菌群能引发更强烈的细胞应激与损伤, 提示菌群组成在疾病进展中的潜在影响^[40]。

在药物研发方面, 多项研究展示了IO用于新药发现的潜力。例如, 鸡乳杆菌(*Lactobacillus gallinarum*, *L. gallinarum*)是从鸡肠道中分离的乳酸菌, 研究显示, 其在结直肠癌患者中的丰度显著降低。进一步研究发现, 该菌培养上清可浓度依赖性地抑制结直肠癌细胞增殖和集落形成, 并特异性地促进癌细胞及患者来源类器官的凋亡, 而对正常结肠上皮细胞无明显毒性, 展现出了良好的辅助抗肿瘤潜力^[41]。醋酸酯是一种微生物代谢产物, 其在高浓度条件下也能对溃疡性结肠炎患者来源的HIO模型表现出较强的屏障保护与抗炎作用, 为开发以代谢物为基础的炎症性肠病治疗药物提供了临床前依据^[42]。BREVINI等^[43]研究显示, 法尼醇X受体(farnesoid X receptor, FXR)是SARS-CoV-2靶向组织中ACE2转录的直接调节因子, 该机制首次在人胆管类器官中被发现, 并在气道类器官与IO中得到验证。此外, 该团队利用离体灌注的人肺和人肝实验表明, 抑制FXR功能可降低SARS-CoV-2感染的易感性, 这一发现为宿主导向相关治疗提供了新思路。

IO模型在推动个性化医疗上同样展现出巨大前景。患者来源HIO能够维持原发组织的转录特征与部分病理表型^[44]。一项前瞻性II期临床试验共纳入90名所有标准治疗均失败的转移性结直肠癌患者, 利用患者来源的类器官进行体外化药、靶向药等药敏测试, 最终有37.8%的患者接受了基于测试结果的精准治疗, 其中50%的患者在治疗2个月时疾病无进展, 中位总生存期达到189天^[45]。该试验证明基于患者来源类器官的药敏测试结果指导晚期结直肠癌治疗具有良好的转化前景, 但其广泛应用还需优化培养技术以提高转化速度和成功率。结合OoC系统可将HIO与微生物高效共培养, 重现HMI。利用该模型分析患者的GM, 可揭示药物治疗临床效果相关的关键生物标志物和机制, 为个性化医疗赋能^[46]。

3 当前挑战与克服策略

3.1 当前挑战

尽管IO模型在技术与应用上取得了巨大进展,但其在深入的机制研究和临床转化中仍面临诸多限制。IO与免疫细胞共培养并结合OoC技术能在一定程度上模拟肠道的免疫微环境,但缺乏血管结构会减少T细胞和巨噬细胞等免疫组分的募集,而许多基于IO技术的HMI研究忽略了这一点^[47]。此外,IO的培养需要充足的氧气,而大部分GM是严格厌氧菌,二者对氧气需求的差异导致采用IO模型研究HMI时,研究对象多局限于需氧或兼性厌氧微生物,而难以涵盖更关键的严格厌氧菌群^[48]。IO模型的转化应用也因缺少标准化的培养流程与验证体系而受限,培养体系中细胞外基质、生长因子和细胞来源等重要组分存在差异,易导致不同实验室构建的类器官生物特性不一致,严重影响实验结果的可重复性与数据的可比性,进而阻碍实验成果的转化^[49]。

3.2 应对策略

为在IO中引入血管结构,ORGE等^[50]开发了一种微血管技术,他们将内皮祖细胞与器官特异性成纤维细胞共同嵌入纤维蛋白水凝胶中,观察到了二者可自组织形成稳定的血管网络,这一创新技术为体外研究HMI提供了更真实的微环境。针对厌氧菌共培养限制,KAKNI等^[51]构建了低氧环境下顶端朝

外的HIO模型,其顶侧可直接暴露于生理性低氧环境中,且该模型可与严格厌氧菌稳定共培养。为促进IO研究的临床转化,必须对干细胞获取、培养基组分和细胞外基质来源等条件进行标准化,以构建成分明确、质量可控的类器官模型^[52]。同时,还应加强不同实验室之间的交流合作,共同制定统一的质量控制体系与鉴定标准,为该技术的规范发展与临床转化奠定基础。

4 总结与展望

肠道是人体重要的多功能器官,其与GM的相互作用在维持机体健康中发挥重要作用。传统体内外研究模型存在显著局限性,无法准确反映人体肠道环境,IO因保留肠道上皮生理特征被广泛用于HMI研究,其培养的关键在于选择合适的干细胞、生长因子与细胞外基质。近年来,IO技术发展迅猛,已衍生出2D结构、顶侧外翻结构、免疫共培养体系等新模型,其与OoC技术及CRISPR-Cas9基因编辑技术的整合,进一步提升了模型的生理相关性与系统功能性。这些进展促进了IO模型在HMI研究中的应用,不仅改善了多种病原体与益生菌的研究现状,更使IO模型在转化医学中展现出了广阔前景(图1)。尽管当前IO模型还存在缺乏血管结构、与厌氧微生物共培养困难、未建立标准培养体系等问题,但是

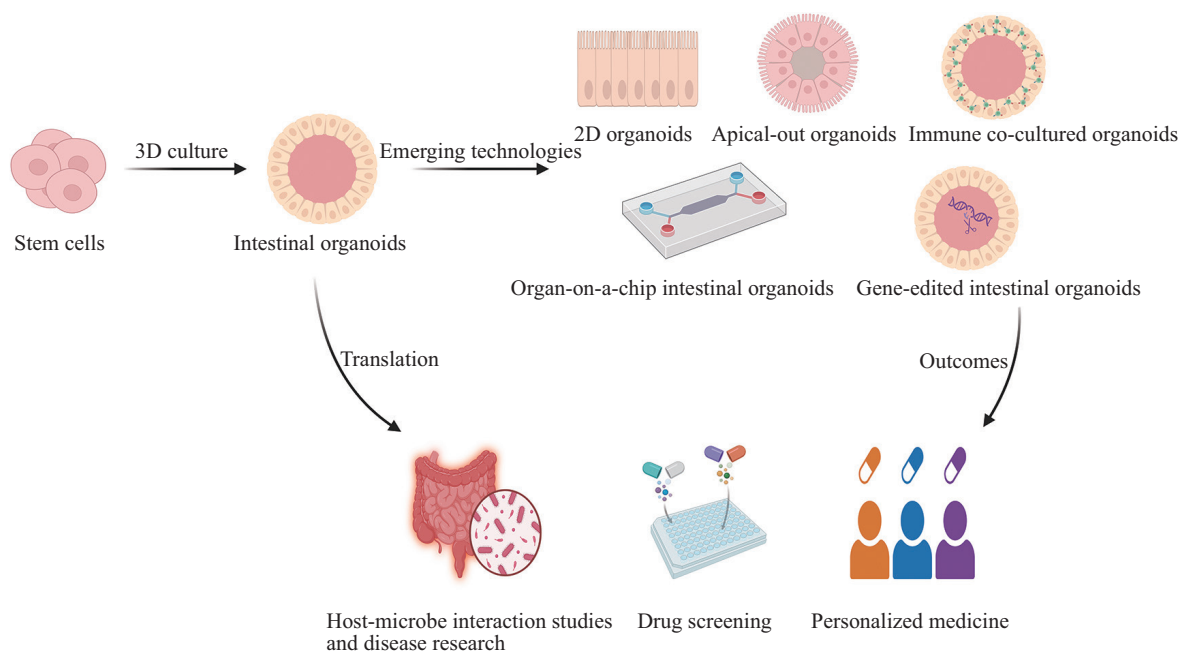


图1 肠道类器官平台

Fig.1 The intestinal organoid platform

随着微血管技术、低氧共培养平台、标准化培养流程与鉴定体系的逐步建立, 这些困难正被逐一攻克。未来, 作为高度生理相关的体外模型, IO将通过多学科与多技术的交叉融合, 在肠道生理研究、GM研究、药物筛选和个性化医疗等领域发挥更大作用。

参考文献 (References)

- [1] KHAN M T, ZOHAI R M, KHAN A, et al. From gut to brain: the roles of intestinal microbiota, immune system, and hormones in intestinal physiology and gut-brain-axis [J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2025, 607: 112599.
- [2] JYOTI, DEY P. Mechanisms and implications of the gut microbial modulation of intestinal metabolic processes [J]. *NPJ Metab Health Dis*, 2025, 3(1): 24.
- [3] HAWLEY J A, FORSTER S C, GILES E M. Exercise, the gut microbiome and gastrointestinal diseases: therapeutic impact and molecular mechanisms [J]. *Gastroenterology*, 2025, 169(1): 48-62.
- [4] PEARCE S C, COIA H G, KARL J P, et al. Intestinal *in vitro* and *ex vivo* models to study host-microbiome interactions and acute stressors [J]. *Front Physiol*, 2018, 9: 1584.
- [5] KENNEDY E A, KING K Y, BALDRIDGE M T. Mouse microbiota models: comparing germ-free mice and antibiotics treatment as tools for modifying gut bacteria [J]. *Front Physiol*, 2018, 9: 1534.
- [6] 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.
- [7] DURCZAK P M, FAIR K L, JINKS N, et al. Generation of hiPSC-derived intestinal organoids for developmental and disease modelling applications [J]. *J Vis Exp*, 2024, doi: 10.3791/61199.
- [8] RAHMANI S, BREYNER N M, SU H M, et al. Intestinal organoids: a new paradigm for engineering intestinal epithelium *in vitro* [J]. *Biomaterials*, 2019, 194: 195-214.
- [9] CRAMER M C, BADYLAK S F. Extracellular matrix-based biomaterials and their influence upon cell behavior [J]. *Ann Biomed Eng*, 2020, 48(7): 2132-53.
- [10] HUGHES C S, POSTOVIT L M, LAJOIE G A. Matrigel: a complex protein mixture required for optimal growth of cell culture [J]. *Proteomics*, 2010, 10(9): 1886-90.
- [11] HUSHKA E A, BLATCHLEY M R, MACDOUGALL L J, et al. Fully synthetic hydrogels promote robust crypt formation in intestinal organoids [J]. *Adv Mater*, 2025, 37(43): e09672.
- [12] KIM K A, KAKITANI M, ZHAO J, et al. Mitogenic influence of human R-spondin1 on the intestinal epithelium [J]. *Science*, 2005, 309(5738): 1256-9.
- [13] SUZUKI A, SEKIYA S, GUNSHIMA E, et al. EGF signaling activates proliferation and blocks apoptosis of mouse and human intestinal stem/progenitor cells in long-term monolayer cell culture [J]. *Lab Invest*, 2010, 90(10): 1425-36.
- [14] HARAMIS A P, BEGTHEL H, VAN DEN BORN M, et al. *De novo* crypt formation and juvenile polyposis on BMP inhibition in mouse intestine [J]. *Science*, 2004, 303(5664): 1684-6.
- [15] SPENCE J R, MAYHEW C N, RANKIN S A, et al. Directed differentiation of human pluripotent stem cells into intestinal tissue *in vitro* [J]. *Nature*, 2011, 470(7332): 105-9.
- [16] WARSCHKAU D, DELGADO-BETANCOURT E, HOLTHAUS D, et al. From 3D to 2D: harmonization of protocols for two-dimensional cultures on cell culture inserts of intestinal organoids from various species [J]. *Bio Protoc*, 2022, 12(2): e4295.
- [17] CO J Y, MARGALEF-CATALÀ M, LI X, et al. Controlling epithelial polarity: a human enteroid model for host-pathogen interactions [J]. *Cell Rep*, 2019, 26(9): 2509-20.e4.
- [18] NOZAKI K, MOCHIZUKI W, MATSUMOTO Y, et al. Co-culture with intestinal epithelial organoids allows efficient expansion and motility analysis of intraepithelial lymphocytes [J]. *J Gastroenterol*, 2016, 51(3): 206-13.
- [19] RECALDIN T, STEINACHER L, GJETA B, et al. Human organoids with an autologous tissue-resident immune compartment [J]. *Nature*, 2024, 633(8028): 165-73.
- [20] OFORI-KWAFO A, SIGDEL I, AL MAMUN E, et al. Gut-on-a-chip platforms: bridging *in vitro* and *in vivo* models for advanced gastrointestinal research [J]. *Physiol Rep*, 2025, 13(9): e70356.
- [21] SHIN Y C, SHIN W, KOH D, et al. Three-dimensional regeneration of patient-derived intestinal organoid epithelium in a physiodynamic mucosal interface-on-a-chip [J]. *Micromachines*, 2020, 11(7): 663.
- [22] CARVALHO D J, KIP A M, TEGEL A, et al. A modular microfluidic organoid platform using LEGO-like bricks [J]. *Adv Healthc Mater*, 2024, 13(13): e2303444.
- [23] MARTINEZ-SILGADO A, YOUSEF YENGEJ F A, PUSCHHOFF J, et al. Differentiation and CRISPR-Cas9-mediated genetic engineering of human intestinal organoids [J]. *STAR Protoc*, 2022, 3(3): 101639.
- [24] BEUMER J, BAUZÁ-MARTINEZ J, VETH T S, et al. Mapping prohormone processing by proteases in human enteroendocrine cells using genetically engineered organoid models [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2022, 119(46): e2212057119.
- [25] CHEN Y W, ZHOU J H, WANG L. Role and mechanism of gut microbiota in human disease [J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2021, 11: 625913.
- [26] VOGT S L, SERAPIO-PALACIOS A, WOODWARD S E, et al. Enterohemorrhagic *Escherichia coli* responds to gut microbiota metabolites by altering metabolism and activating stress responses [J]. *Gut Microbes*, 2023, 15(1): 2190303.
- [27] KARVE S S, PRADHAN S, WARD D V, et al. Intestinal organoids model human responses to infection by commensal and Shiga toxin producing *Escherichia coli* [J]. *PLoS One*, 2017, 12(6): e0178966.
- [28] HE T, DING Y H, SUN Y L, et al. Advances in sRNA-mediated regulation of *Salmonella* infection in the host [J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2025, 15: 1503337.
- [29] DAMIGOS S, CALISKAN A, WAJANT G, et al. A multicellular *in vitro* model of the human intestine with immunocompetent features highlights host-pathogen interactions during early *Salmonella typhimurium* infection [J]. *Adv Sci*, 2025, 12(9): e2411233.
- [30] ETTAYEBI K, CRAWFORD S E, MURAKAMI K, et al. Replication of human noroviruses in stem cell-derived human enteroids [J]. *Science*, 2016, 353(6306): 1387-93.
- [31] LI N F, CRAWFORD S E, MITTIGA S R, et al. Macrophage

- phagocytosis of human norovirus-infected cells in an *ex vivo* human enteroid-macrophage coculture model [J]. *mBio*, 2025, 16(8): e01180-25.
- [32] HAN Y L, DUAN X H, YANG L L, et al. Identification of SARS-CoV-2 inhibitors using lung and colonic organoids [J]. *Nature*, 2021, 589(7841): 270-5.
- [33] JANG K K, KACZMAREK M E, DALLARI S, et al. Variable susceptibility of intestinal organoid-derived monolayers to SARS-CoV-2 infection [J]. *PLoS Biol*, 2022, 20(3): e3001592.
- [34] WANG J H, GAO M, WANG J R, et al. LGG promotes activation of intestinal ILC3 through TLR2 receptor and inhibits *Salmonella typhimurium* infection in mice [J]. *Virulence*, 2024, 15(1): 2384553.
- [35] WU H Q, XIE S, MIAO J F, et al. *Lactobacillus reuteri* maintains intestinal epithelial regeneration and repairs damaged intestinal mucosa [J]. *Gut Microbes*, 2020, 11(4): 997-1014.
- [36] ENGEVIK M A, RUAN W, ESPARZA M, et al. Immunomodulation of dendritic cells by *Lactobacillus reuteri* surface components and metabolites [J]. *Physiol Rep*, 2021, 9(2): e14719.
- [37] SONNENBORN U. *Escherichia coli* strain Nissle 1917-from bench to bedside and back: history of a special *Escherichia coli* strain with probiotic properties [J]. *FEMS Microbiol Lett*, 2016, 363(19): fnw212.
- [38] ROSENDAHL HUBER A, PLEGUEZUELOS-MANZANO C, PUSCHHOF J, et al. Improved detection of colibactin-induced mutations by genotoxic *E. coli* in organoids and colorectal cancer [J]. *Cancer Cell*, 2024, 42(3): 487-96,e6.
- [39] ELMENTAITE R, ROSS A D B, ROBERTS K, et al. Single-cell sequencing of developing human gut reveals transcriptional links to childhood Crohn's disease [J]. *Dev Cell*, 2020, 55(6): 771-83,e5.
- [40] ARNAUTS K, SUDHAKAR P, VERSTOCKT S, et al. Microbiota, not host origin drives *ex vivo* intestinal epithelial responses [J]. *Gut Microbes*, 2022, 14(1): 2089003.
- [41] SUGIMURA N, LI Q, CHU E S H, et al. *Lactobacillus gallinarum* modulates the gut microbiota and produces anti-cancer metabolites to protect against colorectal tumourigenesis [J]. *Gut*, 2021, 71(10): 2011-21.
- [42] DELEU S, ARNAUTS K, DEPREZ L, et al. High acetate concentration protects intestinal barrier and exerts anti-inflammatory effects in organoid-derived epithelial monolayer cultures from patients with ulcerative colitis [J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(1): 768.
- [43] BREVINI T, MAES M, WEBB G J, et al. FXR inhibition may protect from SARS-CoV-2 infection by reducing ACE2 [J]. *Nature*, 2023, 615(7950): 134-42.
- [44] PARENTE I A, CHIARA L, BERTONI S. Exploring the potential of human intestinal organoids: applications, challenges, and future directions [J]. *Life Sci*, 2024, 352: 122875.
- [45] JENSEN L H, ROGATTO S R, LINDEBJERG J, et al. Precision medicine applied to metastatic colorectal cancer using tumor-derived organoids and *in-vitro* sensitivity testing: a phase 2, single-center, open-label, and non-comparative study [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2023, 42(1): 115.
- [46] BALLERINI M, GALIÈ S, TYAGI P, et al. A gut-on-a-chip incorporating human faecal samples and peristalsis predicts responses to immune checkpoint inhibitors for melanoma [J]. *Nat Biomed Eng*, 2025, 9(6): 967-84.
- [47] WEN Z, ORDUNO M, LIANG Z X, et al. Optimization of vascularized intestinal organoid model [J]. *Adv Healthc Mater*, 2024, 13(31): e2400977.
- [48] SASAKI N, MIYAMOTO K, MASLOWSKI K M, et al. Development of a scalable coculture system for gut anaerobes and human colon epithelium [J]. *Gastroenterology*, 2020, 159(1): 388-90,e5.
- [49] ZHOU C C, WU Y B, WANG Z Y, et al. Standardization of organoid culture in cancer research [J]. *Cancer Med*, 2023, 12(13): 14375-86.
- [50] ORGE I D, NOGUEIRA PINTO H, SILVA M A, et al. Vascular units as advanced living materials for bottom-up engineering of perfusable 3D microvascular networks [J]. *Bioact Mater*, 2024, 38: 499-511.
- [51] KAKNI P, JUTTEN B, TEIXEIRA OLIVEIRA CARVALHO D, et al. Hypoxia-tolerant apical-out intestinal organoids to model host-microbiome interactions [J]. *J Tissue Eng*, 2023, 14: 20417314221149208.
- [52] LESAVAGE B L, SUHAR R A, BROGUIERE N, et al. Next-generation cancer organoids [J]. *Nat Mater*, 2022, 21(2): 143-59.