

类器官培养系统在卵巢癌药物筛选与治疗靶点研究中的应用前景

沈宇杰, 杨红, 李佳, 徐盈

(空军军医大学第一附属医院, 陕西 西安 710032)

摘要: 卵巢癌是一种致命的妇科肿瘤, 目前卵巢癌的研究平台主要使用 2D 细胞系培养和异种移植, 两者均有其相应的局限性。类器官是一种体外 3D 培养模型, 能够高度还原患者体内病变部位的组织学和基因组特征, 维持肿瘤细胞的高度异质性。除此之外, 类器官在基因分析、药物筛选和药物敏感性测定等方面具有强大优势, 可以用作卵巢癌研究的临床前模型。

关键词: 类器官; 卵巢癌; 药物筛选

中图分类号: R737.31 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-170X(2022)12-1042-04

doi: 10.11735/j.issn.1671-170X.2022.12.B012

Application Prospects on Organoid Culture System in Drug Screening and Treatment Target for Ovarian Cancer

SHEN Yu-jie, YANG Hong, LI Jia, XU Ying

(The First Affiliated Hospital of Air Force Military Medical University, Xi'an 710032, China)

Abstract: Ovarian cancer is a common gynecological tumor, and the current research platform for ovarian cancer mainly uses 2D cell line culture and xenotransplantation, both of which have their limitations. Organoids are in vitro 3D culture model which highly restore the histological and genomic characteristics of lesions in patients and maintain a high degree of heterogeneity of tumor cells. In addition, organoids have advantages in gene analysis, drug screening and drug sensitivity assessment, which can be used as a preclinical model for ovarian cancer research.

Subject words: organoid; ovarian cancer; drug screening

类器官是一种体外 3D 细胞培养系统, 它与来源于体内的组织具有高度的相似性, 保留了体内复杂的空间结构; 并且, 类器官具有与体内分化的组织器官相似的生理反应, 可以代表组织的关键特性。类器官最初发展于由汉斯·克里夫斯团队所建立的肠道干细胞培养系统^[1], 自这一开创性研究之后, 各种细胞和组织来源的类器官逐步被建立起来。卵巢癌类器官模型通过肿瘤基因组的建模, 从癌症基因组中筛选和鉴定驱动基因的突变, 高度概括患者的肿瘤异质性^[2], 弥补了 2D 细胞系及异种移植的不足, 在基因分析、药物筛选和药物敏感性测定等方面具有强大的优势, 可以用作卵巢癌研究的重要平台。本

文将对类器官培养系统在卵巢癌药物筛选与治疗靶点研究中的应用前景进行综述。

1 类器官的优势

目前常用的体外培养系统大致有 3 种, 分别是 2D 细胞系培养、患者来源的异种移植和 3D 类器官培养系统。

1.1 2D 细胞系培养

肿瘤 2D 细胞系具有培养简单、可以大量增殖、无限生长等优点, 可以广泛应用于各种实验。但是, 肿瘤细胞在培养过程中易发生细胞的交叉污染和微生物污染, 且 2D 培养细胞具有基因型不稳定的特征^[3]。建立永久细胞系也是一大难题^[4]。更重要的是, 细胞系仅可以保留其来源的癌症细胞的部分特征,

基金项目: 国家自然科学基金(82172993); 陕西省自然科学基金一般项目(2022JQ-977); 西安市科技计划项目(20YXYJ0009-7)

通信作者: 杨红, E-mail: yanghongfck@163.com

收稿日期: 2022-06-30; **修回日期:** 2022-10-09

与内源性肿瘤具有很大的差异性^[5]。研究报道,2D培养细胞系与内源性癌组织的差异表达基因的数量远高于正常细胞与内源性的差异表达基因数量^[6]。2D细胞培养中的这些缺陷大大降低了癌症研究的准确性。

1.2 患者来源的异种移植

患者来源的异种移植指的是将肿瘤患者的癌症病灶植入小鼠的皮下或者原位肿瘤的发生位置。研究证明,患者来源的异种移植保留了其来源肿瘤的基因组特征、肿瘤标志物的特征及蛋白质表达等生物学行为^[7],是一种与患者来源肿瘤极度相似的体外培养模型,与2D细胞系相比,患者来源的异种移植可以更好地反映体内情况,可以准确地反映肿瘤的临床特征,可以用来筛选和评估药物反应,包括抗血管生成药物^[8]。患者来源的异种移植还原度高,准确性强,可作为癌症研究中良好的体外模型。

在晚期癌症患者的治疗研究中,往往需要迅速建立体外模型进行药物筛选和分析,这时异种移植可发挥的作用就微乎其微了。因为异种移植需要建立的时间较长,时效性不高,且花费高。除此之外,异种移植还涉及动物实验的伦理问题^[9]。

1.3 类器官培养系统的优势

类器官与来源于体内的组织具有高度的相似性,保留了体内复杂的空间结构,并且,类器官具有与体内分化的组织器官相似的生理反应,可以代表组织的关键特性。与患者来源的异种移植相比,类器官具有培养速度快、操作简单、低花费等优点。类器官可以通过手术中取得患者肿瘤样本或腹腔积液,在短期内建立适合的模型。此外,类器官可以保留肿瘤的异质性,包括同源患者肿瘤内异质性和患者间肿瘤异质性^[2]。除了肿瘤细胞本身之外,肿瘤微环境也对肿瘤的发生发展起着重要的作用,气-液界面法培养类器官通过将原发肿瘤上皮细胞与内源性免疫基质结合,准确地保留了原始的肿瘤T细胞受体(TCR)谱。此外,基于人和小鼠来源的类器官成功通过抗PD-1、抗PD-L1抗体诱导建立了免疫检查点阻断模型,扩增并激活了肿瘤抗原特异性的肿瘤浸润淋巴细胞(tumor infiltrating lymphocytes, TIL)。类器官作为肿瘤免疫学研究平台,促进个性化的免疫治疗测试^[10]。由此可见,类器官弥补了2D细胞培养和异种移植的缺陷,可以用于肿瘤精准治疗的研究。

2 类器官在卵巢癌精准治疗中的应用

2.1 卵巢癌建模

肿瘤建模是研究肿瘤发生发展,开发有效治疗方法的基础。近年来,使用类器官进行卵巢癌建模已被证明是高效可行的。Kopper等^[2]从32例患者来源的卵巢癌灶中建立了56个类器官,几乎涵盖了卵巢癌的主要亚型。在他们的研究中,类器官的培养成功率保持在65%,冻存复苏成功率保持在85%。除此之外,通过对拷贝数变异(CNV)、单核苷酸变异(SNV)和结构变异(SVS)的分析表明,卵巢癌类器官可以保留起源的肿瘤基因组图谱,证实了卵巢癌类器官可以反映患者之间和患者内部的异质性。

类器官的基本建模方法包括如下几个步骤:首先从原发肿瘤取材,将手术切除病灶组织、腹腔积液等分离出的肿瘤细胞包埋在3D基质中,并在添加各种生长因子和激素的培养基中进行培养^[11]。Maru等^[12]通过对卵巢癌类器官培养方法进行改进,使用双层基质培养法(MBCO),将培养成功率由45%提高至90%。该团队设计了9个卵巢癌类器官系,涵盖了高级别浆液性癌、黏液性癌、子宫内膜样癌、交界性和早期肿瘤,并保留了原发肿瘤的组织学、突变和瘤内异质性,使后续的卵巢癌发生机制研究成为可能。

2.2 药物筛选

类器官可以作为制定治疗方案之前的预测模型对患者的治疗反应进行预测,从而个体化地进行临床决策。在Oded Kopper小组的研究中,提出药物筛选的可能性^[2]。一组研究人员从22例高级别浆液性卵巢癌患者中建立了33个类器官模型,验证了这些类器官存在同源重组缺陷及复制叉保护功能缺陷,并且将这些类器官作为PARP抑制剂治疗反应的预测模型^[13]。另一组研究人员建立了以高级别浆液性卵巢癌为主的类器官模型,并进行了化疗药物筛选,结果显示,类器官模型对临床化疗药物具有敏感性^[14]。患者来源的卵巢癌类器官作为一种临床预测模型具有很强的潜力,可以帮助医生临床决策,并提供个性化的治疗方案。

2.3 卵巢癌发生机制及化疗耐药机制的研究

患者来源的卵巢癌类器官,为卵巢癌的发生及化疗耐药机制的研究提供可行的平台。在近期的一

项研究中发现,短型胸腺间质淋巴生成素可以在卵巢癌中表达,并促进肿瘤生长^[15]。另一组研究人员建立了来源于正常人输卵管上皮(FTE)的携带 *BRCA1* 基因突变类器官平台。实验证明,*BRCA1* 突变基因可以促使正常输卵管上皮细胞向高级别浆液性卵巢癌转化。这个平台可以为携带 *BRCA1* 突变基因的妇女提供早期检测,并制定预防策略^[16]。另一项研究发现,铂类药物通过改变癌细胞的内在粘附信号和细胞外基质增强化疗耐药性^[17]。关于卵巢癌的发生机制及化疗耐药机制的研究仍处在不断探索中,卵巢癌类器官将在机制研究领域发挥不容小觑的作用。

2.4 药物研发及治疗靶点的发现

近期一个研究小组使用类器官模型发现,当 ReACp53 和卡铂联合作用时,化疗效果明显,这种组合治疗方法可能适用于携带 *P53* 突变的卵巢癌患者^[18]。卵巢癌类器官除了可以用于新药物的研发,还支持卵巢癌治疗靶点的研究。卵巢癌患者对铂类化疗的敏感性受 *UCA1/miR-27A-5p/UBE2N* 轴的调节。为了模拟卵巢癌患者对治疗的反应,该团队选择了卵巢癌患者的肿瘤组织进行类器官建模,使用 *UBE2Ni* 联合卡铂处理类器官,并在实验结束时评估细胞存活率,结果发现,*UBE2Ni* 对卡铂有不同程度的敏化作用,*UBE2N* 可能作为新的靶点,成为对抗卵巢癌化疗耐药的一种新的治疗策略^[19]。

3 小 结

类器官作为一项高效、高还原度、低成本的体外培养模型,在卵巢癌精准治疗中具有广阔的应用前景。由于卵巢癌铂耐药性和高复发率,类器官在指导个性化二线化疗方案的选择上具有很大的发挥空间。对于耐药机制的研究,类器官也可以提供方便高效的平台。另外,目前针对卵巢癌治疗的靶点及临床新药有待开发,类器官作为合适的体外模型,将大大推动卵巢癌精准靶向治疗的发展。

除此之外,卵巢癌类器官芯片的建立指日可待。Takanori Takebe 团队在 2017 年提出将类器官与器官芯片相整合,他们提出两种技术整合可以弥补两项技术各自的不足,这种融合生物工程的跨学科平台,将推动精准医学向前迈一大步^[20]。类器官芯片是一个具有活细胞和细胞外基质,在细胞数量和内部

结构与器官高度相似的显微结构。具有连续流动灌注培养的能力,并且可以精确控制肿瘤微环境^[21]。研究人员建立了一个女性生殖系统的微流体系统,该系统还原了卵巢、输卵管、子宫、宫颈和肝脏之间的内分泌环路^[22]。类器官芯片可以作为研究癌症多器官转移和微环境相互作用的平台,将在未来的研究中发挥作用。

尽管卵巢癌类器官的发展速度很快,但这项技术仍存在一些缺点。相当一部分的卵巢癌患者需要进行新辅助化疗,新辅助化疗导致卵巢癌细胞减少,进而导致卵巢癌类器官的产量下降,且培养周期延长;其次,卵巢癌类器官缺乏包括间充质、神经系统、肌层和免疫细胞的生理微环境^[23]。目前基于卵巢癌类器官的免疫共培养技术还在积极探索中。

参考文献:

- [1] Sato T, Vries RG, Snippert HJ, et al. Single Lgr5 stem cells build crypt-villus structures in vitro without a mesenchymal niche[J]. *Nature*, 2009, 459(7244): 262-265.
- [2] Kopper O, Witte CJD, Lohmussaar K, et al. An organoid platform for ovarian cancer captures intra- and interpatient heterogeneity[J]. *Nat Med*, 2019, 25(5): 838-849.
- [3] Masters JR. Human cancer cell lines fact and fantasy[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2000, 1(3): 233-236.
- [4] Barretina J, Caponigro G, Stransky N, et al. The cancer cell line encyclopedia enables predictive modelling of anticancer drug sensitivity[J]. *Nature*, 2012, 483(7391): 603-607.
- [5] Staveren WCG, Solís DY, Hébrant A, et al. Human cancer cell lines: experimental models for cancer cells in situ? for cancer stem cells? [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2009, 1795(2): 92-103.
- [6] Ertel A, Verghese A, Byers SW, et al. Pathway-specific differences between tumor cell lines and normal and tumor tissue cells[J]. *Mol Cancer*, 2006, 5(1): 55.
- [7] Schmidt KF, Ziu M, Schmidt NO, et al. Volume reconstruction techniques improve the correlation between histological and in vivo tumor volume measurements in mouse models of human gliomas[J]. *J Neurooncol*, 2004, 68(3): 207-215.
- [8] Maris JM, Courtright J, Houghton PJ, et al. Initial testing of the VEGFR inhibitor AZD2171 by the pediatric pre-clinical testing program[J]. *Pediatr Blood Cancer*, 2008, 50(3): 581-587.

- [9] Kelland LR. Of mice and men: values and liabilities of the athymic nude mouse model in anticancer drug development[J]. *Eur J Cancer*, 2004, 40(6):827–836.
- [10] Jenkins RW, Aref AR, Lizotte PH, et al. Ex vivo profiling of PD-1 blockade using organotypic tumor spheroids[J]. *Cancer Discov*, 2018, 8(2):196–215.
- [11] Yang J, Huang S, Cheng S, et al. Application of ovarian cancer organoids in precision medicine: key challenges and current opportunities[J]. *Front Cell Dev Biol*, 2021, 9: 701429.
- [12] Maru Y, Tanaka N, Itami M, et al. Efficient use of patient-derived organoids as a preclinical model for gynecologic tumors[J]. *Gynecol Oncol*, 2019, 154(1):189–198.
- [13] Hill SJ, Decker B, Roberts EA, et al. Prediction of DNA repair inhibitor response in short-term patient-derived ovarian cancer organoids[J]. *Cancer Discov*, 2018, 8(11): 1404–1421.
- [14] Maenhoudt N, Defraye C, Boretto M, et al. Developing organoids from ovarian cancer as experimental and pre-clinical models[J]. *Stem Cell Reports*, 2020, 14(4):717–729.
- [15] Chan LKY, Lau TS, Chung KY, et al. Short-form thymic stromal lymphopoietin (sTSLP) is the predominant isoform expressed by gynaecologic cancers and promotes tumour growth[J]. *Cancers (Basel)*, 2021, 13(5):980.
- [16] Yucer N, Ahdoot R, Workman MJ, et al. Human iPSC-derived fallopian tube organoids with BRCA1 mutation recapitulate early-stage carcinogenesis [J]. *Cell Rep*, 2021, 37(13):110146.
- [17] Pietilä EA, Gonzalez-Molina J, Moyano-Galceran L, et al. Co-evolution of matrisome and adaptive adhesion dynamics drives ovarian cancer chemoresistance[J]. *Nat Commun*, 2021, 12(1):3904.
- [18] Neal A, Lai T, Singh T, et al. Combining ReACp53 with carboplatin to target high-grade serous ovarian cancers[J]. *Cancers (Basel)*, 2021, 13(23):5908.
- [19] Wambecke A, Ahmad M, Morice PM, et al. The lncRNA ‘UCA1’ modulates the response to chemotherapy of ovarian cancer through direct binding to miR-27a-5p and control of UBE2N levels[J]. *Mol Oncol*, 2021, 15(12):3659–3678.
- [20] Takebe T, Zhang B, Radisic M, et al. Synergistic engineering: organoids meet organs-on-a-chip[J]. *Cell Stem Cell*, 2017, 21(3):297–300.
- [21] Park SE, Georgescu A, Huh D, et al. Organoids-on-a-chip[J]. *Science*, 2019, 364(6444):960–965.
- [22] Skardal A, Murphy SV, Devarasetty M, et al. Multi-tissue interactions in an integrated three-tissue organ-on-a-chip platform[J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1):8837.
- [23] Jabs J, Zickgraf FM, Park J, et al. Screening drug effects in patient-derived cancer cells links organoid responses to genome alterations[J]. *Mol Syst Biol*, 2017, 13(11):955.

《肿瘤学杂志》关于论文中基金项目标注的要求

获得基金/课题、计划等资助的论文应在论文首页地脚以“基金项目:”作为标识,注明基金项目名称(标准的书面全称,避免使用不规范的口头缩略语),并在圆括号内注明其项目编号(基金项目批准文号)。

基金项目名称应按照国家有关部门规定的正式名称填写,多项基金应依据基金级别依次列出,其间以“;”隔开。同一基金涉及多个项目,其间以“,”隔开连排,句末不加标点。示例如下:

基金项目:国家自然科学基金(81774233,81602088);“十一五”国家高技术研究发展计划(2006AA05Z102);浙江省教育科学规划课题(2020SCG307)

凡是标注基金项目的论文,在投稿时应同时邮寄体现基金项目名称全称及批准文号的相关通知复印件(全文),或扫描件其电子文档以附件形式上传至投审稿系统。