

类器官研究进展及其在胃癌中的应用

陈伟¹, 张常华², 何裕隆^{1,2*} (1. 中山大学附属第一医院胃肠外科; 2. 中山大学附属第七医院(深圳)消化医学中心)



作者简介:何裕隆, 医学博士、博士研究生导师。国家级精品资源共享课—中山大学外科学负责人、国家重点学科—普通外科主要负责人、中山大学附属第七医院院长、中山大学附属第一医院大外科主任、胃肠外科中心主任、中山大学附属第一医院胃肠间质瘤中心主任、疝与腹壁外科中心主任、临床营养中心主任中山大学附属第一医院胃肠外科中心主任医师、教授, 内镜中心副主任。主编《胃癌淋巴转移》、《直肠癌保肛手术》, 主译《消化道肿瘤诊断与治疗》, 副主编《普通外科疾病临床诊断与治疗方案》、《胃癌外科学》, 参编《胃肠外科学》、《消化肿瘤外科学》、《胃肠外科手术学》、《外科学》本科教材、《外科临床手册》等著作。以第一作者、通讯作者发表论文400篇, 其中SCI约60篇。

【摘要】 胃癌是我国主要癌肿之一, 发病率和死亡率均位居全部癌症第二位。受制于研究模型的缺乏, 胃癌发生机制、胃癌治疗药物开发等研究进展缓慢。类器官(Organoid)是干细胞在体外三维环境中培养所形成的细胞结构; 通过体外模拟细胞在体内的生存环境, 类器官技术能够高效培养原代细胞, 包括正常细胞、肿瘤细胞。来自肿瘤的类器官被称为“瘤器官”(Tumoroid); 瘤器官具有很高的“保真性”, 能够保持原肿瘤的组织细胞形态、基因组学特征和药敏特征等。由于瘤器官的重要性, 全球各种瘤器官生物样本库纷纷被建立起来。在胃癌方面, 德国和日本近期分别建立大样本胃癌瘤器官生物样本库, 对于研究胃癌发生、胃癌个体化治疗等具有重要意义。本综述针对类器官在胃癌研究中的应用的前沿研究进行总结, 向大家介绍该领域内的最新进展。

【关键词】 胃癌; 类器官; 3D 培养

The advancement in organoid research and its applications in gastric cancer CHEN Wei¹, ZHANG Chang-hua², HE Yu-long^{1,2}. 1. Gastrointestinal Surgery, the First Affiliated Hospital of Sun Yat-Sen University, Guangzhou 510080, China; 2. The Center of Digestive Disease, the Seventh Affiliated Hospital of Sun Yat-Sen University, Shenzhen 518000, China

Corresponding author: HE Yu-long, E-mail: heyulong@mail.sysu.edu.cn

【Abstract】 Gastric cancer is one of the main cancer types in China, which ranks second among all cancers in terms of prevalence and mortality. However, because of a lack of appropriate models, the study of its tumorigenic mechanism as well as the development of therapeutic drugs have been hampered. Organoid is a special cell structure derived from 3D culture of stem cells. Through simulating the environment which accommodates cells in-vivo, the organoid technology could easily be applied for primary culture of cells, including both normal cells and tumor cells. The organoid which is derived from a tumor is called tumoroid. The tumoroids are very faithful in keeping the morphological, genomic and drug sensitivity features of the original tumors. Because of those advantages, many tumoroid banks have been established around the world. In gastric cancer, large live biobank of gastric cancer tumoroids have been created in both Germany and Japan, which have shown great promise in studying tumorigenesis and personalized therapy of gastric cancer. In this article, we will review the most important studies in gastric cancer organoid, and to share our opinions with other researchers in academic community.

【Key words】 Gastric cancer; Organoid; 3D culture

类器官(Organoid)是干细胞在三维环境中培养所形成的近似器官样结构。类器官是一种新型

细胞培养技术; 与传统细胞培养不同, 类器官是三维培养, 而传统细胞培养为二维。由于人体细胞生存在三维环境中, 因此类器官培养更接近细胞的真实生理状态, 意味着类器官模型较传统肿瘤细

通信作者: 何裕隆, E-mail: heyulong@mail.sysu.edu.cn

胞系有更强的保真性。另一方面,传统肿瘤细胞二维培养仅能用于成功建系的肿瘤细胞株,而不能应用于稳定的原代培养。类器官则突破了这一限制,既可以用于原代培养,又可以用于传代培养。因此,类器官技术的出现使得细胞培养出现了本质的提升。由于这些优势,类器官技术在干细胞与发育、再生医学、良性疾病研究、肿瘤发生、肿瘤个体化治疗、新药研发等领域都具有重要的应用前景;在此之前,由于模型匮乏,上述研究均进展缓慢。

类器官技术文章最早发表于2009年,由来自荷兰的Hans Clevers博士带领的团队完成。他们最早发现了维持小肠干细胞在3D环境中分裂、分化所需的培养因子组合^[1]。随后,类器官研究在全球铺展开来,主流癌症的类器官均被成功建立,部分非上皮来源肿瘤如胶质瘤也取得了成功^[2,3]。这些开拓性的研究让类器官的培养和实验技术逐步建立起来,类器官在肿瘤研究中的应用渐渐推广开来。

1 研究背景

胃部疾病如胃炎、胃溃疡、胃癌等,在人群中具有较高的发病。胃上皮具有复杂的结构和功能,由10余种不同分化类型的细胞构成,并且胃底、胃窦部的腺体结构具有明显的区别^[4]。与其他常见消化系统器官如肝脏、小肠、结肠等相比,人们对胃上皮细胞的分化、生理、病理学过程,以及胃上皮发育过程中的分子调控机制等,研究仍不够深入。

缺乏有效的研究模型是胃上皮疾病研究进展缓慢的重要原因。尽管小鼠模型常被用来研究人胃的生理与病理,但由于人与小鼠在胚胎发育及胃上皮组织结构方面的差异,导致小鼠模型难以准确模拟人类胃上皮的病理生理学改变和肿瘤发生^[5,6]。例如,小鼠胃除了胃底、胃窦外,还拥有第三个部分——前胃(forestomach),并非由腺上皮覆盖^[7]。因此,要加快胃的生理与病理研究步伐,一个好的模型至关重要。类器官的出现有望改变这一现状。

胃上皮类器官培养的原理就是在3D环境下培养胃上皮干细胞,辅以生长因子的刺激,细胞自发分裂、分化形成球囊状结构。胃上皮腺体可分为胃底/体腺和胃窦/幽门腺两部分,胃底腺和胃窦腺均可以构建成胃上皮类器官,其中含有的细胞成分与各自上皮一致(图1,图2)。

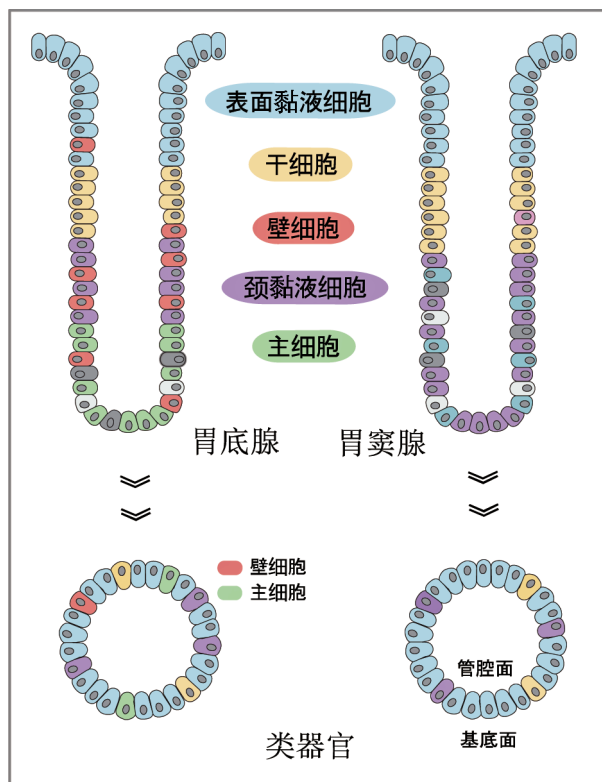


图1 胃上皮及其类器官的组织细胞结构。胃解剖上可分为胃底、胃体、胃窦、幽门,对应的胃上皮可以分为胃底/体腺和胃窦/幽门腺两部分,两者在细胞构成上差别较大。它们均含有表面黏液细胞、颈黏液细胞、干细胞、内分泌细胞;但胃底腺含有壁细胞(分泌盐酸)和主细胞(分泌胃蛋白酶),而胃窦腺不含有这两种细胞组分。胃底腺和胃窦腺均可以构建成胃上皮类器官。胃腺体内的干细胞能够分裂、分化,自发形成球囊状结构;囊壁上含有所有腺体内的细胞成分。囊内为上皮的腔面,内含脱落细胞、分泌物等;囊外为上皮的基底面,为细胞外基质成分

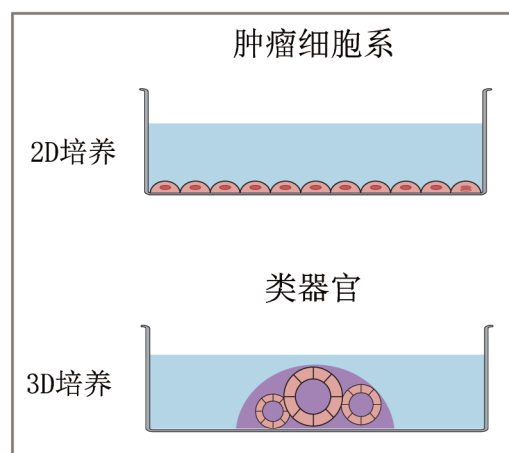


图2 2D与3D细胞培养。传统肿瘤细胞系培养为2D培养,细胞呈单层贴附于细胞培养皿表面生长;类器官为3D细胞培养,细胞生长在细胞外基质中,能够自动分化并形成三维腺腔样结构

2 正常胃类器官

来自美国斯坦福大学 Calvin Kuo 团队,采用一种特殊的“气-液交界”法成功培养出小鼠正常胃上皮类器官(表1)。组织学研究发现,类器官中细胞呈现高分化,主要由表面黏液细胞构成,同时含有少量颈黏液细胞和壁细胞。这种“air-liquid interface”方法培养的类器官,细胞增殖较慢,传代时间20~50天。^[8]

在人类正常胃上皮的研究方面,来自美国辛那提儿童医院团队走在前列(表1)。研究者找到了诱导胚胎干细胞定向分化为胃上皮的方法。通过在胚胎干细胞生长的不同阶段加入特定因子,研究者成功建立了人类胃上皮类器官。组织病理学检查发现,该类器官与胃窦腺体类似,而与胃底腺体不同。类器官高表达胃窦腺标志物 PDX1,而不含有胃底腺特有的 ATP4B+ 的壁细胞。类器官主要由表达 MUC5AC 的表面黏液细胞组成,同时含有 MUC6+ 颈黏液细胞、SOX9+ 干细胞、LGR5+ 干细胞;胃类器官内还含有多种内分泌细胞,包括表达 GAST、SST、GHRL、serotonin (5-HT) 等内分泌因子的细胞。这些分析表明,采用这种诱导分化方法可以完美的再现胃窦腺结构^[9]。该团队后续研究发现,通过 WNT 因子能够控制类器官的分化方向;当 WNT 信号激活时,类器官向胃底腺方向分化,当 WNT 信号不足时,类器官向胃窦腺方向分化^[10]。这一发现对于理解胃上皮分化的调控具有重要意义。

来自荷兰的 Hans Clevers 团队是类器官研究的前驱,其最初主要研究小肠和结肠类器官(表1)。在类器官构建技术方面,该团队采用了与辛那提儿童医院不同的方法,通过上皮中的成体干细胞构建类器官,而非通过胚胎干细胞诱导而成。Clevers 博士的方法更为简单,培养过程并不需要控制不同诱导因素;仅采用一份培养基,成体干

胞即可自发形成类器官。Clevers 团队培养出的类器官倾向于胃底腺分化方向,其中主细胞标记 PGC 表达阳性,同时 MUC5AC+、MUC6+、PAS+、SST+,但壁细胞标记 ATPase 为阴性。同时该团队发现,WNT 决定着类器官向更加原始的腺上皮(Gland mucus)还是隐窝上皮(Pit mucus)分化。当 WNT 高浓度时,类器官向腺上皮分化;当 WNT 低浓度时,类器官向隐窝上皮分化。在生理状态下,胃腺体底部含有干细胞,被称为干细胞巢,其周围含有丰富的 WNT 因子;而腺体的腔面含有终末分化的细胞,WNT 因子水平显著降低。胃上皮类器官在不同浓度 WNT 因子刺激下的表型差异,说明类器官能够准确模拟胃上皮在体内的生理状态。^[11]

3 胃癌类器官构建

类器官技术不仅可以用于培养正常细胞,还可以用来培养肿瘤细胞,两者具有完全相同的培养条件。由于肿瘤类器官不能像正常类器官那样分化成上皮的不同细胞组分,因此被称为 Tumoroid,以区别正常类器官(Organoid);我们这里把肿瘤类器官(Tumoroid)简称“瘤器官”,以反映其与“类器官”的区别和联系。随着类器官培养技术的完善,肿瘤类器官被大量建立起来,涵盖几乎所有主流癌症类型。肿瘤类器官可以进行常规肿瘤细胞系的所有操作,包括传代、冻存、复舒、基因操纵、功能实验、药敏筛查等。因此肿瘤类器官是人类肿瘤的良好模型,可以用于肿瘤基础研究、肿瘤个体化治疗、抗肿瘤药物研发等方面。

4 胃癌瘤器官活性生物样本库

由于肿瘤异质性的存在,需要从大样本肿瘤类器官中筛选出同质性的个体进行研究。因此,建立和维护大样本肿瘤类器官样本库至关重要。不同于传统肿瘤标本库,类器官生物样本库是活的

表1 胃及胃癌类器官重要研究

年份	杂志	国别	简介
2014	Nature Med	美国 ^[8]	从小鼠胚胎干细胞建立胃正常类器官,并利用该模型研究 HP 感染、胃癌发生机制
2014	Nature	美国 ^[9]	从人类胚胎干细胞建立胃正常类器官,并利用该模型研究 HP 感染
2014	Gut	德国 ^[12]	从胃黏膜成体干细胞建立胃正常类器官,并利用该模型研究 HP 感染
2015	Gastroenterology	荷兰 ^[11]	从胃黏膜成体干细胞建立胃正常类器官,并利用该模型研究 HP 感染;建立人胃癌类器官
2017	Nature	美国 ^[10]	利用类器官模型证实 Wnt/ β -catenin 信号促进胃上皮向胃底腺方向分化
2018	Gut	德国 ^[13]	建立 20 例人胃癌生物样本库,并进行形态学、基因组学、功能学、研究
2018	Cell	日本 ^[14]	建立 67 例人胃癌生物样本库,并进行形态学、基因组学、功能学研究,深度探索胃癌“表型——基因型”及其机制

生物样本库(Live Biobank),不仅保留的各个患者的遗传资源,还可以进行各种基础实验、药敏试验等,因此其价值远远超过传统标本库。

截至目前,国际上已经报道了两个经过系统性研究的胃癌瘤器官生物样本库(表1)。其中,在2018年 *Gut* 杂志上,德国科学家首先报道成功建立胃癌瘤器官活性生物样本库,包括20例胃癌瘤器官,并进行了深入的表型和基因型分析^[13]。在2018年 *Cell* 杂志上的一篇研究中,来自日本的研究人员成功建立了67例胃癌瘤器官,这是截至目前报道的规模最大的胃癌瘤器官活性生物样本库。研究者们同样对胃癌瘤器官模型的形态学、分子病理学、基因组学等进行了深入的研究^[14]。这些构建成功的类器官样本库可以像传统肿瘤细胞系一样使用,具有很高的应用价值。

5 胃癌瘤器官的保真性

作为人类研究模型,评价其性能的重要标准是该模型的保真性。研究表明肿瘤类器官能够很好的保持原肿瘤的形态学、基因组特征。例如在上文德国胃癌瘤器官研究中,瘤器官呈现两种形态:空心囊状腺腔样结构,或者细胞弥漫分布的实心球状结构,与胃癌的Lauren分型一致。同时,同一例胃癌的瘤器官、瘤器官移植瘤与原肿瘤的组织结构保持一致;CEA、CK7、PAS等胃癌标志物的表达水平也保持一致。^[13]

在上文日本胃癌瘤器官研究中,胃癌瘤器官同样呈现出空心囊状或实心球状两种形态,部分胃癌瘤器官为混合型。研究者进一步手动分离混合型胃癌中的腺状和弥漫状成分,两者分离培养后,均能够保持各自的形态;通过外显子组测序发现,基因组异质性伴随着混合型肿瘤的分选而分离,表明这一性状由基因水平决定,能够稳定的遗传。尽管样本量有限,这一研究提示了Lauren分型中的混合型,实际上是携带有不同基因组变异的亚克隆肿瘤。这些研究结果对我们联系基因型-表型具有重要意义,可以帮助我们解释各种肿瘤表型的分子基础^[14]。因此,类器官可以非常准确的模拟胃癌的Lauren分型,传统的肿瘤细胞系培养难以做到。

在基因组层面,多个类器官研究比较了原始肿瘤与其培养所得瘤器官在基因组水平上的差别。结果发现,瘤器官与原始肿瘤基因组变异高度一致。例如,在乳腺癌瘤器官研究中,患者的肿瘤瘤器官

与其原肿瘤的基因突变、染色体拷贝数变异均保持一致^[15]。类似的,在结直肠癌瘤器官^[16]、肝癌类器官^[17]、食管癌^[18]、膀胱癌^[19]等,均得出相同的结果。

6 胃癌瘤器官分子分型

胃癌是一种异质性很强的肿瘤,不同患者的胃癌存在较大差异。TCGA研究把胃癌划分为4种分子亚型(染色体不稳定型CIN、微卫星不稳定型MSI、基因组稳定型GS、EB病毒感染性EBV),这是目前为止最广为接受的胃癌分子分型^[20]。通过多组学研究发现,胃癌瘤器官同样可以按照TCGA胃癌分型规则进行分类。在德国胃癌瘤器官研究中,4例经过多组学检测的胃癌瘤器官中,2例为微卫星不稳定(MSI),发生MLH1基因甲基化失活或者MSH6基因失活突变,瘤器官的总基因突变数量较其他类器官显著升高;另外1例存在染色体不稳定(CNA),同时伴有TP53基因突变和ERBB2基因扩增;最后1例为基因组稳定型(GS),存在CDKN2A缺失和ARID1A突变^[13]。在日本胃癌瘤器官研究中,同样可以把胃癌瘤器官按照TCGA框架进行分子分型。在36例纳入多组学研究和分子分型的胃癌瘤器官中,分别有7、25、4例被划分为MSI、CIN和GS亚型。胃癌瘤器官中EBV亚型的缺失目前原因还不明确。作者进一步探究了4例GS肿瘤的成因,发现肿瘤存在多种CDH1通路失活,包括基因突变、缺失、LOH等^[14]。

除了验证既往组织块测序的研究结果之外,胃癌瘤器官研究还作出了许多新的发现。日本胃癌瘤器官研究鉴定出四例基因组稳定型胃癌(GS),它们全部表现为CIMP+(高甲基化);尽管MSI型胃癌也表现为CIMP+,但与GS胃癌不同的是,MSI型胃癌中存在MLH1基因的高甲基化和基因组高突变率^[14]。在之前的基因组学研究中,GS型胃癌被划分为CIMP-型,这可能是由于这些测序研究采用混合有大量非肿瘤细胞的肿瘤组织导致^[20]。由此可见,通过类器官分离纯肿瘤细胞,能够避免非肿瘤细胞组分的干扰,更加准确的对高间质浸润肿瘤进行组学评估。

7 类器官与HP致病机制研究

HP(幽门螺杆菌)感染能够引起胃溃疡,同时HP感染也被认为是胃癌的致病原因。经典的散发性胃癌致病学说认为,胃黏膜感染HP引起慢性胃

炎、胃黏膜萎缩、肠上皮化生,最终导致胃癌的发生。尽管这一假说可以很好的解释临床观察结果,但由于研究模型的缺乏,很难通过实验证实。

胃上皮类器官的出现有望解决这一问题。正常胃上皮类器官能够形成类似胃黏膜的腺窝,同时类器官包裹的腔与胃腔类似,因此类器官是研究细菌感染的良好模型。来自美国辛辛那提儿童医院团队为了模拟HP感染胃上皮过程,利用显微注射法把HP注射到胃上皮类器官腔内。24 h后观察发现,HP开始定植于黏膜表面,细菌CagA蛋白被注入上皮细胞内;同时研究者观察到,HP感染的类器官上皮增殖速度加快,结果与既往采用2D培养模型一致。对照组则采用CagA-的HP菌株感染胃类器官,结果类器官的增殖反应消失。这一结果表明CagA蛋白可能是HP的重要致癌因子^[9]。荷兰Hans Clevers研究组也开展了类似的研究,他们利用HP显微注射感染类器官,发现HP在上皮表面定植;通过转录组学检测,发现了HP感染引起了一系列上皮炎症反应,从而揭示HP感染改变胃上皮的分子基础^[11]。

8 肿瘤相关功能基因研究

肿瘤发生过程中关键致病基因及其功能研究对揭示癌症发生原因具有重要意义,传统通过转基因小鼠或者肿瘤细胞系来研究肿瘤功能基因。转基因小鼠耗时长、成本高,同时无法进行大规模、连续观察和试验;肿瘤细胞系已经成为完全性肿瘤,含有大量复杂基因组变异,难以分离单个基因变异因素的影响,因此并不适合用于研究肿瘤发生。在非肿瘤领域,类器官模型对研究发育和疾病具有不可比拟的优势;在肿瘤领域,类器官模型较常规肿瘤细胞系同样优势明显。研究者能够通过操纵正常类器官中的癌/抑癌基因,研究肿瘤发生的分子基础。类器官模型因其可以培养正常细胞并稳定传代,因而成为研究肿瘤发生发展的重要工具。

美国斯坦福大学Calvin Kuo团队在小鼠正常胃上皮类器官中过表达KrasG12D突变,或沉默p53基因后,类器官均呈现不典型增生;两者联合后胃上皮不典型增生更加明显。将这些异形细胞移植到免疫缺陷鼠NOG皮下,均能够产生移植瘤,证实了KrasG12D突变和TP53基因突变在胃癌发生过程中的作用。研究者进一步对E-cad-

herin染色发现,肿瘤中腺腔样高分化区域存在E-cadherin表达,而非腺腔样低分化区域E-cadherin表达缺失。^[8]

在德国胃癌类器官研究中,研究者利用小鼠正常胃上皮类器官来建立胃癌模型。根据不同胃癌分子亚型的致病基因特点,研究者分别把小鼠正常胃类器官的TP53/KRAS、CDH1/APC进行突变,这些基因组合分别位于CIN型胃癌和GS型胃癌中突变率最高基因行列。结果研究者成功在体外建立小鼠胃癌类器官模型。基因突变后的类器官形态发生明显改变,由单层囊状变成多层或者呈实心球状;类器官对干细胞因子的依赖程度显著减低;不仅如此,类器官的克隆形成能力也显著增强。这些类器官都显示出肿瘤细胞的特征。^[13]

在日本胃癌类器官研究项目中,研究者通过基因操纵技术对正常人胃上皮类器官进行了详细探索。CDH1是重要的细胞黏附相关基因,对维持上皮形态具有重要意义,同时发挥抑癌基因功能。研究者采用CRISPR-Cas9技术敲除CDH1基因以后,正常类器官从“管状”变为“实心球状”,与人类低分化弥漫型胃癌组织学形态类似。与此同时,CDH1基因敲除后细胞的运动能力显著增强,也与弥漫型胃癌中的癌细胞特征一致。另一方面,敲除CDH1下游基因CTNNA1后,类器官表现出与CDH1基因敲除相同的表型,进一步证实了CDH1通路在胃癌发生中的作用。^[14]

RHOA是另一个弥漫型胃癌特征性高频突变基因^[20-22]。在日本类器官研究中,把正常人胃类器官敲除RHOA后,类器官仍呈“管状”,但类器官传代时不再依赖ROCK抑制剂,失巢凋亡被显著抑制。转染发生错义突变的RHOA基因后,能够逆转这一现象;这一研究表明RHOA突变导致RHOA功能缺失(loss of function),RHOA错义突变能够获得新的功能(gain of function)。这一结果与Wang等研究一致,他们在小鼠肠道类器官中表达RHOA突变基因,能够抑制细胞消化引起的类器官失巢凋亡^[21]。Kakiuchi等利用传统肿瘤细胞系培养也证实了上述现象^[22]。这些研究表明类器官在功能基因研究方面能够代替传统肿瘤细胞系,而且在某些细胞功能如组织形态等方面,类器官显著优于传统肿瘤细胞系。

WNT通路是重要的干细胞通路,也是类器官培养所需的基本生长因子。日本胃癌类器官研究

发现,胃癌通过多种途径激活 WNT 通路:WNT 自分泌、AXIN2(WNT 靶基因)过表达、APC 突变或缺失、RNF43 或 ZNRF3 缺失(RNF43 和 ZNRF3 泛素化降解 WNT 受体 LRP 和 Frizzled)、R-spondin 自分泌(R-spondin 结合并稳定 WNT 受体 LRP 和 Frizzled)。肿瘤类器官发生 WNT 通路激活后,细胞对 WNT 因子(WNT3A、R spondin 1 的需求降低);研究者利用这一特性来选择性培养肿瘤类器官并抑制正常干细胞的生长^[14]。

9 类器官与胃癌治疗研究

传统“精准治疗”模式是根据基因/分子诊断结果,选择相应的靶向药物。然而由于肿瘤基因组的复杂性和肿瘤异质性的存在,绝大部分靶向治疗的有效率仍差强人意,远远达不到“精准”的要求。因此,在现阶段仍无法准确预测个体对靶向治疗的敏感性。肿瘤个体化模型的出现有望解决这一困难,通过在患者的个体肿瘤上试验化疗药物,能够得到最为接近真实情况的药敏数据。肿瘤类器官是一种个体化的肿瘤模型,有望在肿瘤的个体化、精准治疗中发挥重要作用。

在 2018 年 2 月发表于 *Science* 杂志上的一篇文章中,作者比较结直肠癌患者和其对应肿瘤类器官对同一化疗药物的药敏结果。试验共纳入 21 对肿瘤和肿瘤类器官的药敏数据,用药方案包括紫杉醇单药、5-Fu/顺铂双药、EGFR 靶向治疗等。综合这 21 对患者/肿瘤类器官药敏数据,研究者计算出了类器官预测临床药敏的统计结果:敏感性 100%,特异性 93%,阳性预测值 88%,阴性预测值 100%。可以看出肿瘤类器官用于临床用药指导具有很高的敏感性和特异性,能够完美的代表原肿瘤的药敏反应。该研究首次证实肿瘤类器官药敏与患者真实药敏具有高度一致性,表明肿瘤类器官可以用于肿瘤患者的用药指导。^[16]

胃癌方面,日本胃癌类器官研究对 EGFR 通路进行了详细的探索,EGFR 是重要的肿瘤通路,具有靶向治疗价值。ERBB3 或 PTEN 突变的胃癌类器官仍然依赖生长因子 EGF 和 FGF10,但 ERBB2 或 ERBB3 扩增的胃癌类器官不再依赖 EGF 和 FGF10。采用广谱 ERBB 激酶抑制剂处理,能够阻断大部分 ERBB 基因扩增型类器官的增殖。类似的,KRAS 第 12 外显子突变的胃癌类器官也不再依赖 EGF 和 FGF10。另外一些胃癌类器官

尽管没有发生 ERBB 基因组改变且不依赖 EGF 和 FGF10,但他们却对 ERBB 激酶抑制剂敏感;通过组学分析发现,这些类器官能够自分泌 Epregrin,可能导致了这一现象。同时研究还发现,MET 扩增的胃癌类器官对 MET 抑制剂克唑替尼敏感,提示对应的患者可以使用克唑替尼治疗。^[14]

在德国胃癌类器官研究中,作者根据全基因组测序所得的基因突变及药物靶点信息,研究者尝试对类器官进行靶点指导下的“精准”治疗。研究者发现,ERBB2 扩增的类器官对抗 ERBB2 抗体曲妥珠单抗反应良好;c-KIT 基因突变的类器官对伊马替尼较为敏感;CDKN2A 缺失的类器官则对靶向细胞周期的 CDK4/6 抑制剂 palbociclib 显著耐药。这些实验表明胃癌类器官可以用于靶点指导下的靶向治疗。^[13]

以上研究表明,胃癌类器官可能用于指导肿瘤的个体化和靶向治疗。由于现阶段类器官药敏试验仍然是观察性研究,要最终证实上述现象,我们还需要进行前瞻性的干预实验。

10 总结

类器官是新一代细胞模型,具有传统的肿瘤细胞系、转基因小鼠等模型无法比拟的优势,能够大大推动肿瘤基础研究、非肿瘤良性疾病研究等的进展。由于肿瘤类器官在模拟人体肿瘤方面的保真性,使得其在肿瘤个体化治疗、抗肿瘤新药研发方面也具有广泛应用前景。学术界需要加强对类器官的基础研究,从而实现类器官的各项应用潜能。随着类器官培养门槛的降低,类器官技术将得到大规模推广和应用。

参考文献

- [1] Abo A, Stange D E, Clevers H, et al. Single Lgr5 stem cells build crypt-villus structures in vitro without a mesenchymal niche [J]. *Nature*, 2009, 459(7244):262-265.
- [2] Shamir E R, Ewald A J. Three-dimensional organotypic culture: experimental models of mammalian biology and disease [J]. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 2014, 15(10):647-64.
- [3] Drost J, Clevers H. Organoids in cancer research [J]. *Nature Reviews Cancer*, 2018, 18(7):407-418.
- [4] Watson S A, Grabowska A M, Elzaatari M, et al. Gastrin - active participant or bystander in gastric carcinogenesis? [J]. *Nature Reviews Cancer*, 2006, 6(12):936-946.
- [5] Peek R M. Helicobacter pylori infection and disease: from humans to animal models [J]. *Disease Models & Mechanisms*,

- 2008, 1(1):50-55.
- [6] Eicher A K, Berns H M, Wells J M. Translating Developmental Principles to Generate Human Gastric Organoids [J]. Cellular & Molecular Gastroenterology & Hepatology, 2018, 5 (3):353-363.
- [7] Lee E R, Trasler J, Dwivedi S, et al. Division of the mouse gastric mucosa into zymogenic and mucous regions on the basis of gland features [J]. American Journal of Anatomy, 1982, 164 (3):187-207.
- [8] Li X, Nadauld L, Ootani A, et al. Oncogenic transformation of diverse gastrointestinal tissues in primary organoid culture [J]. Nature Medicine, 2014, 20(7):769-777.
- [9] Mccracken K W, Catá E M, Crawford C M, et al. Modeling human development and disease in pluripotent stem cell-derived gastric organoids [J]. Nature, 2014, 516(7531):400-404.
- [10] Mccracken K W, Aihara E, Martin B, et al. Wnt/ β -catenin promotes gastric fundus specification in mice and humans [J]. Nature, 2017, 541(7636):182-187.
- [11] Bartfeld S, Bayram T, Van d W M, et al. In vitro expansion of human gastric epithelial stem cells and their responses to bacterial infection [J]. Gastroenterology, 2015, 148(1):126-136.
- [12] Schlaermann P, Toelle B, Berger H, et al. A novel human gastric primary cell culture system for modelling Helicobacter pylori infection in vitro [J]. Gut, 2016, 65(2):202-213.
- [13] Seidlitz T, Merker SR, Rothe A, et al. Human gastric cancer modelling using organoids [J]. Gut 2018;0:1-11.
- [14] Nanki et al., Divergent Routes toward Wnt and R-spondin Niche Independency during Human Gastric Carcinogenesis [J]. Cell, 2018, 174:856-869.
- [15] Sachs N, De J L, Kopper O, et al. A Living Biobank of Breast Cancer Organoids Captures Disease Heterogeneity [J]. Cell, 2018, 172(1-2):373-386.
- [16] Vlachogiannis G, Hedayat S, Vatsiou A, et al. Patient-derived organoids model treatment response of metastatic gastrointestinal cancers [J]. Science, 2018, 359(6378):920-926.
- [17] Broutier L, Mastrogianni G, Versteegen M M, et al. Human primary liver cancer-derived organoid cultures for disease modeling and drug screening [J]. Nature Medicine, 2017, 23(12):1424-1435.
- [18] Li X, Francies H E, Secrier M, et al. Organoid cultures recapitulate esophageal adenocarcinoma heterogeneity providing a model for clonality studies and precision therapeutics [J]. Nature Communications, 2018, 9(1):2983.
- [19] Lee S H, Hu W, Matulay J T, et al. Tumor Evolution and Drug Response in Patient-Derived Organoid Models of Bladder Cancer [J]. Cell, 2018, 173(2):515-528.
- [20] TCGA Network. Comprehensive molecular characterization of gastric adenocarcinoma [J]. Nature, 2014, 513 (7517):202-209.
- [21] Wang K, Yuen ST, Xu J, et al. Whole-genome sequencing and comprehensive molecular profiling identify new driver mutations in gastric cancer [J]. Nature Genetics, 2014, 46(6):573-582.
- [22] Kakiuchi M, Nishizawa T, Ueda H, et al. Recurrent gain-of-function mutations of RHOA in diffuse-type gastric carcinoma [J]. Nature Genetics, 2014, 46(6):583-587.

收稿日期(2018-09-20)