

尹晓磊, 同济大学生命科学与技术学院特聘教授, 博士生导师, 同济大学附属东方医院特聘研究员。入选国家青年高层次人才计划。国家重点研发计划“干细胞及转化研究”重点专项首席科学家。本科和博士均毕业于北京大学, 其后于麻省理工学院和哈佛大学医学院进行博士后和讲师阶段的研究。目前研究聚焦于成体干细胞、类器官、干细胞命运调控与组织再生的基础研究和转化应用。已在 *Cell Stem Cell*、*Nat Methods*、*Nat Commun* 等杂志上发表论文20余篇, 引用6 000 余次。

类器官技术驱动的细胞治疗创新模式

张千悦 尹晓磊*

(上海市东方医院再生医学研究所, 心脏病全国重点实验室, 教育部细胞干性与命运编辑前沿科学中心, 同济大学生命科学与技术学院, 上海 200092)

摘要 细胞治疗作为革新性医学手段, 在组织再生与肿瘤治疗中潜力显著, 然而传统二维培养的细胞功能缺陷、移植整合低效及针对性治疗的缺乏, 制约其临床转化。类器官技术通过“三维微环境重建-多细胞协同-自组织”核心机制, 推动细胞治疗从“被动替代”迈向“主动重建”的范式转变。类器官技术正在推动细胞治疗从实验室概念向标准化临床治疗转变, 为精准医疗和再生医学的产业化发展提供重要的理论指导和实践路径。该文系统阐述了类器官技术驱动细胞治疗创新的分子机制, 总结了类器官技术在创造优质细胞来源、提升移植整合效率和实现个性化治疗等方面的突出优势, 并讨论了该领域仍面临的问题以及未来多学科指导下类器官发展的新探索。

关键词 类器官; 细胞治疗; 分子机制; 创新模式; 临床转化

Innovation Paradigm of Cell Therapy Models Driven by Organoid Technology

ZHANG Qianyue, YIN Xiaolei*

(Institute for Regenerative Medicine, State Key Laboratory of Cardiovascular Diseases, Shanghai East Hospital, Frontier Science Center for Stem Cell Research, School of Life Sciences and Technology, Tongji University, Shanghai 200092, China)

Abstract Cell therapy, as a revolutionary medical approach, holds significant potential in tissue regeneration and tumor treatment. However, its clinical translation is hampered by functional deficiencies in cells from traditional two-dimensional culture, inefficient transplant integration, and a lack of targeted therapies. Organoid tech-

收稿日期: 2025-06-22 接受日期: 2025-07-29

*通信作者。Tel: 021-65986025, E-mail: xyin@tongji.edu.cn

国家重点研发项目(批准号: 2020YFA0112500)、国家自然科学基金(批准号: 31970820)、中央高校基本科研业务费(批准号: 22120250374)和上海市高峰学科(IV类)资助的课题

Received: June 22, 2025 Accepted: July 29, 2025

This work was supported by the National Key Research and Development Program of China (Grant No.2020YFA0112500), the National Natural Science Foundation of China (Grant No.31970820), the Fundamental Research Funds for the Central Universities (Grant No.22120250374), and the Peak Disciplines (Type IV) of Institutions of Higher Learning in Shanghai

*Corresponding author. Tel: +86-21-65986025, E-mail: xyin@tongji.edu.cn

nology, through its core mechanism of “three-dimensional microenvironment reconstruction-multicellular synergy-self-organization”, is driving a paradigm shift in cell therapy from “passive replacement” to “active reconstruction”. This technology is advancing cell therapy from a laboratory concept toward standardized clinical treatment, providing crucial theoretical guidance and practical pathways for the industrial development of precision medicine and regenerative medicine. This review systematically elaborates on the molecular mechanisms through which organoid technology drives innovation in cell therapy, summarizes its prominent advantages in creating high-quality cell sources, enhancing transplantation-integration efficiency, and achieving personalized treatment, and discusses current challenges alongside novel explorations for future multidisciplinary development.

Keywords organoids; cell therapy; molecular mechanism; innovation paradigm; clinical translation

传统二维 (two-dimensional, 2D) 细胞培养技术经过数十年发展, 在细胞系建立、大规模扩增、质量控制等方面建立了完善的标准化体系, 并成功支撑了胚胎干细胞^[1-2]、诱导多能干细胞^[3-5]以及CAR-T(chimeric antigen receptor-T cell)细胞^[6]等重要技术的发展。这些技术在帕金森病^[7-8]、脊髓损伤^[9]、肝脏疾病^[10]和免疫性疾病^[11-12]等多个领域展现出治疗潜力, 在视网膜、心肌细胞等器官特异性细胞的获得过程中也取得了重要进展^[13-15]。

然而, 随着对细胞功能和治疗效果要求的不断提高, 2D培养体系的生物学局限性逐渐成为制约细胞治疗进一步发展的重要瓶颈。这些局限性与三维 (three-dimensional, 3D) 微环境信号的维度缺失密切相关。在生理状态下, 细胞处于复杂的3D微环境中, Wnt、Notch、BMP等发育信号通路需要在3D空间中形成浓度梯度来驱动细胞的正确分化和功能获得^[16-17]。2D培养的平面化限制使得这些信号通路难以建立正确的空间分布模式, 导致细胞接收到的信号信息不完整。由此引发的细胞极性与功能表型异常进一步加剧了问题的严重性: 2D培养条件下细胞失去3D极性结构, 导致重要功能蛋白的异常定位和表达, 细胞表现出与体内状态不同的基因表达谱和功能特征, 这在心肌细胞和肝细胞等功能复杂的细胞类型中尤为明显^[18-20]。这种环境局限性还体现在多细胞协同互作的缺失上, 2D培养难以维持器官和组织功能所依赖的多种细胞类型协同作用, 特别是对于需要特定细胞生态位支持的稀有细胞类型, 其体外维持和扩增面临较大挑战。此外, 2D培养细胞质量的先天不足也直接关系到移植治疗中的一系列生物学困境。细胞在移植后面临剧烈的环境变化, 缺乏必要的微环境保护和适应机制, 移植后细胞存活率显著降低, 大量细胞发生凋亡^[21-22]。低存

活率进一步导致组织整合效率不佳, 2D培养的细胞缺乏与宿主组织有效整合所需的分子基础, 包括细胞表面受体的适当表达、细胞外基质 (extracellular matrix, ECM) 重塑能力及血管化信号分子等, 在心肌细胞移植中还会出现机电耦合不良导致的心律失常问题^[23-24]。这些功能缺陷会引发免疫排斥与炎症反应。异体细胞移植引发的免疫反应不仅直接损伤移植细胞, 其产生的促炎因子还会破坏局部微环境, 导致治疗效果出现波动, 不同患者间疗效差异较大。

类器官技术的发展为解决上述挑战提供了重要进展。从早期的海绵细胞聚集实验^[25]到现代干细胞生物学的建立^[26], 3D细胞培养技术经历了漫长的发展历程。进入21世纪以来, 类器官研究以高速发展态势在生物领域中兴起, 加速了我们对于细胞、组织以及器官的理解。自2009年CLEVERS团队^[16]建立第一个肠道类器官并正式提出“organoids”概念开始, 类器官技术经历了从简单自组织结构到功能化复杂组织的快速发展阶段。视网膜、脑、胰腺等多种器官类器官相继建立^[27-29], 近年来更是通过整合血管化和免疫细胞等复杂微环境因素, 构建出更贴近真实器官的体外模型^[30-32]。在类器官中, 3D微环境的重建使重要信号通路在正确空间配置下发挥作用, 细胞能够建立正确极性结构并获得生理性功能表型。其良好的自组织能力支持多种细胞类型的协同分化及功能的获得。同时, 使体外再现组织器官发育过程成为可能, 为解析生命进程中各个阶段提供更好的研究工具。在运用到细胞治疗中时, 微环境的保护效应也有效提高了移植细胞的存活率和整合效率。此外, 基于患者自身来源的类器官移植能够在较大程度上规避免疫排斥风险, 为个性化治疗提供了可行的技术路径^[33]。

基于以上问题, 本文将对类器官技术驱动细胞

治疗创新的分子机制进行讨论。阐述其在优质细胞来源创造、移植整合效率提升、个性化治疗实现等方面的创新模式,同时指出类器官在细胞治疗应用方面仍有待解决的问题,并提出未来新的发展方向。

1 传统挑战的机制性解决方案

传统细胞治疗在临床转化中面临三大核心挑战:细胞来源质量局限、移植整合效率瓶颈和个性化治疗技术壁垒。而这些问题的根源在于2D培养体系下缺乏生理性3D微环境的支持。类器官技术通过其自身优势为此提供了重要解决途径,使细胞治疗实现从“被动替代”到“主动重建”的技术转变(图1)。

1.1 细胞来源质量问题的改进机制

传统2D培养方式在细胞来源获取上面临诸多挑战,如稀有细胞类型难以获得、功能细胞成熟度不足以及特定细胞亚群扩增受限等。类器官技术通过重建立体化信号网络在改善上述问题方面显示出重要潜力。在肠道类器官中, $Lgr5^+$ 成体干细胞位于隐窝底部,通过与周围潘氏细胞形成紧密的侧向接触,建立稳定的Notch信号输入,并依赖高Wnt信号低BMP信号来维持干性状态,而这种立体化的隐窝-

绒毛结构在2D培养中是难以实现的^[16]。类器官内部形成的Wnt信号通路梯度展现出独特优势。其中,产生Wnt信号的细胞位于核心位置,通过扩散作用形成浓度梯度。高浓度区域维持干细胞特性,中等浓度区域促进祖细胞增殖,低浓度区域则诱导终末分化^[17]。与此同时,外源添加Noggin等因子构成的BMP拮抗网络在隐窝区形成保护性微环境,有效阻断了BMP信号对干细胞的抑制作用^[16]。此外,ECM作为类器官体系中重要的结构支撑组分,同时也是重要的信号调节平台。3D培养中ECM支架重建了细胞与ECM间的立体互作模式,激活了整合素介导的信号转导网络^[34-35]。细胞通过多个方向与ECM形成整合素-配体结合,激活不同的整合素亚型。例如,肝脏类器官中肝细胞通过 $\beta 1$ 整合素与层粘连蛋白结合,激活FAK/Src信号通路进而促进肝细胞特异性基因的表达^[36-37]。ECM还可指导顶端-基底极性的建立与维持,脱离ECM调控后类器官可能发生极性反转,自分泌层粘连蛋白会形成新基底膜来维持反转后的错误极性^[38]。

1.1.1 获得稀有细胞及诱导更多细胞类型 许多疾病的治疗需要特定的稀有细胞类型,这些细胞在

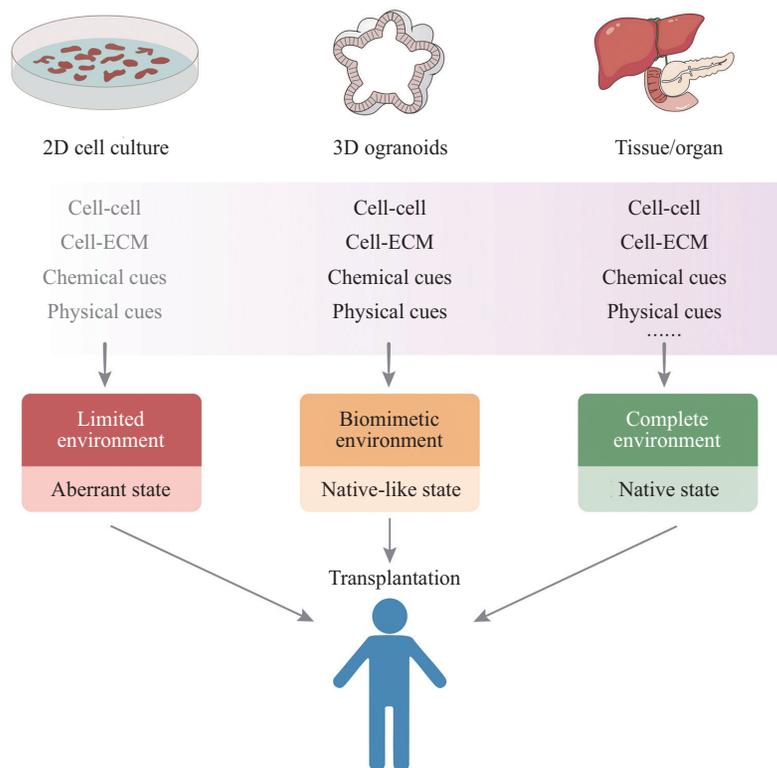


图1 构建类器官模拟体内微环境解决传统细胞培养困境

Fig.1 Addressing traditional cell culture challenges through organoid construction to recapitulate the *in vivo* microenvironment

体内数量稀少且具有独特的发育窗口期。传统培养体系难以在体外有效维持这些细胞的功能和状态,而类器官技术通过重建发育特异性的信号微环境,使得稀有细胞的体外获得成为可能。这些稀有细胞也可作为移植细胞的新候选者,为临床应用提供新的治疗线索。胰腺类器官中已报道有关特异性祖细胞的产生:胎儿胰腺衍生的类器官中富集一种Lgr5⁺的胰腺三能祖细胞,其具有分化为导管、内分泌和腺泡细胞的三向潜能^[39]。该细胞纯化后可单独衍生出类器官并长期扩增,且与成年胃肠道干细胞特征相似。此外小鼠胰腺中Procr⁺胰岛祖细胞与内皮细胞形成的类器官可有效提高 β 细胞的成熟度^[40]。内皮细胞围绕上皮样核心形成血管样网络促进类器官的结构稳定,基因表达分析还显示,内皮细胞可能通过旁分泌信号调控祖细胞行为,在促进类器官扩增过程中起到关键作用。此外,在具有神经视网膜结构的人类视网膜类器官中证实存在视网膜祖细胞(c-Kit⁺/SSEA4⁻),其与胎儿视网膜来源的人视网膜祖细胞(human retinal progenitor cells, hRPCs)基因表达高度相似^[41]。这些细胞在视网膜退化模型移植中可抑制小胶质细胞激活和胶质增生,减少炎症介质的产生,表现出较好的视觉功能改善和结构保护作用。与单纯细胞移植相比,视网膜类器官移植在动物模型中显示出显著的视觉功能恢复,移植细胞存活时间长,视觉功能保护长达24周,展现出治疗视网膜变性的巨大潜力。

一直以来,人类视网膜中的光感受器(视锥、视杆细胞)不能被直接体外诱导,而3D培养下人诱导多能干细胞(human induced pluripotent stem cell, hiPSC)自组织形成的3D视网膜杯(retinal cups, RCs)中检测到感光细胞的产生并形成正确分层^[42]。经透明质酸(hyaluronic acid, HA)处理,可促进类器官中感光细胞的进一步成熟^[43]。HA可使视网膜祖细胞更早退出增殖周期,同时进一步激活CD44(HA主要受体)信号通路及mTOR通路。通过维持整体结构稳态,为感光细胞的成熟提供适宜微环境。同样,小肠中的潘氏细胞是小肠隐窝中的特异性分泌细胞,因缺少隐窝样聚集形态,Wnt信号的短距离转导受阻,且无体内信号梯度分布导致细胞分化方向随机,传统2D方式极难有效诱导和维持。类器官构建中自组织生成的隐窝样结构很好地解决了上述问题^[16],并强调了白介素22在潘氏细胞形成过程中的重要性^[44]。在

成功实现体外细胞诱导的同时,科研人员在类器官建立过程中也更多地解析了相关细胞的命运决定机制,帮助人们更好地认识体内发育过程。

1.1.2 促进目标细胞的功能和结构成熟 细胞的功能成熟度直接影响移植治疗的效果,但传统体系培养的细胞往往表现为胚胎期或幼稚状态,功能性表现不足。类器官的生理性微环境以及多细胞协同作用,有效促进了功能细胞的成熟。其中多细胞协同的功能成熟机制体现了类器官系统性调控的优势。在肝脏类器官中,肝祖细胞在3D培养条件下可实现长期扩增,并高效分化为功能成熟的肝细胞,其表达白蛋白合成、尿素循环及药物代谢酶等关键功能指标,这成功克服了原代肝细胞体外培养快速失活的技术瓶颈^[36,45]。肺泡上皮成熟调控也表明类器官对细胞状态的有效维持。2D培养的II型肺泡上皮细胞(alveolar epithelial type II, AT2)在贴壁后由立方状向扁平状转化,丧失干性特征并趋向I型肺泡上皮细胞(alveolar epithelial type I, AT1)分化^[46]。而在肺泡类器官中,SFTPC⁺ AT2干细胞通过上皮-间质相互作用维持立方形态与干性,长期保留分化潜能^[47]。在获得目标细胞的基础上,人们希望借助类器官的优势,提高内部细胞的功能呈现出与体内相似的生理状态,以期在治疗中发挥更好的作用。使用hPSC高纯度诱导前肾祖细胞群可进一步聚集诱导形成输尿管芽类器官^[48]。多个通路共同调控其分支形态的发生,其中胶质细胞源性神经营养因子(glial cell line-derived neurotrophic factor, GDNF)被认为是最关键的影响因子。在培养后期GDNF可诱导输尿管芽类器官分化为功能性集合管类器官,为修复收集管损伤提供一定数量的功能性细胞,规避传统干细胞移植的定向分化低效问题。另外,一些细胞的加入也可以促进类器官进一步成熟。小胶质样细胞可在视网膜类器官内部分化为驻留小胶质细胞,促进类似人类视网膜的稀疏网状结构的形成,有利于视网膜细胞的正确定位和分化^[49]。在多细胞共培养体系下建立的血管化胰岛类器官中,血管内皮细胞分泌细胞外基质激活 β 细胞表面的整合素 β 1(integrin- β 1 receptor, ITGB1)信号,增强Ca²⁺响应,胰岛素释放能力显著增强^[30]。血管化类器官通过内皮细胞介导的主动调控,显著提升内部细胞的功能成熟度,其核心机制在于构建动态的“内皮-实质细胞”信号传递网络。在工程化血管胰岛类器

官中,内皮细胞分泌层粘连蛋白等特异性细胞外基质组分,激活 β 细胞表面整合素 $\beta 1$ 受体,进而触发BMP2/4-BMP2信号转导,最终提高 β 细胞胰岛素分泌能力^[50]。同样,人肾脏类器官中,功能性血管的生成促进内皮细胞亚型分化,同时内皮与足细胞之间血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)信号增强,促进足细胞的成熟^[50]。在这样类似的工程化血管微环境中,内皮细胞既是ECM信号的提供者也是旁分泌因子的释放源,有效促进了类器官细胞终末分化与功能成熟,为再生医学提供了精准调控靶点。

可以发现,大多数的体系优化都是在维持前体祖细胞干性基础上进一步分化诱导出更成熟的功能细胞获得的。类器官的3D微环境通过精确重建生态位信号,为干细胞及前体祖细胞的干性维持提供不可或缺的支撑,这是实现后续定向分化与功能成熟的基础。RUBIN团队^[51]在骨骼肌类器官中的研究证实,成肌细胞在3D培养下可去分化为具有自我更新能力的卫星细胞样细胞,移植后可融合到肌纤维、重建卫星细胞生态位,移植后仍具有自我更新能力,支持多次肌肉再生。这一突破解决了天然卫星细胞难以体外扩增的困境。在视网膜类器官中还捕获了发育关键期短暂存在的干细胞状态。在人视网膜类器官中富集的神经营养干细胞样细胞(human neural retinal stem-like cells, hNRSCs)与胎儿发育期瞬时存在的神经干细胞高度相似^[52]。通过类器官的手段将hNRSCs进行扩增,将其移植到色素性视网膜炎小鼠模型中,hNRSCs成功分化并有效整合到视网膜中,视网膜退化得到缓解,视觉功能得到改善。移植结果为进一步研究hNRSCs在细胞治疗中的有效性提供了阶段性证据。此外,MORRISEY团队^[53]利用人胚胎干细胞(human embryonic stem cell, hESC)构建出了包含SCGB3A2⁺特异标志蛋白的肺上皮呼吸道分泌细胞(induced respiratory airway secretory, iRAS)的类器官模型。在Notch和Wnt信号调控下iRAS可单向分化产生AT2细胞。单细胞测序证实,iRAS具有独特的转录组特征,被鉴定为人类特异性肺泡再生祖细胞,可作为新细胞来源参与肺泡再生治疗研究。

1.1.3 特定细胞亚群的富集与扩增 虽然类器官培养可实现细胞类型从无到有并实现结构功能优化,但仍需考虑应用中所需的数量问题。为此,研究

者尝试通过条件诱导特定增加某种或某类细胞的比例,实现体外的长期扩增,为后续移植治疗及细胞系构建做准备。研究发现激活Wnt和STAT3信号通路可有效抑制肝细胞向胆管细胞的转分化,稳定维持类器官中肝细胞的自我更新和代谢解毒功能。肝细胞在3~4周内的扩增效率超过100万倍,且可向门静脉区和中央静脉区特异性分化,为体外获得大量肝细胞进行治疗应用提供基础培养方案^[54]。损伤响应性富集策略在肠道类器官中成效显著。DENG等^[55]利用低氧条件模拟肠道损伤微环境建立了再生型肠道类器官,显著富集了损伤反应性Lgr5⁺干细胞群。在8个小分子组合条件培养下,潘氏细胞和肠上皮细胞比例显著降低,而肠内分泌细胞的数量增加。同时类器官形成效率显著提高,精准再现体内损伤修复机制。

近年来利用小分子调控类器官中的细胞命运,可有效富集类器官中的干细胞和功能细胞。通过CHIR-99021和VPA等2个小分子使Lgr5⁺小肠干细胞进行稳定的自我更新,克隆形成率提高100倍,且保留多向分化的能力^[56]。通过Wnt信号通路的动态时间调控决定不同分泌细胞的分化命运,从而高效生成肠内皮细胞及潘氏细胞,实现谱系的定向分化^[57]。进一步在TSA、pVc、CP673451组合条件优化下得到具有更好干性的人小肠类器官,实现自我更新和分化之间的可控平衡^[58]。在小鼠小肠类器官中也有类似的优化方案,指出Nrf2抗氧化通路的激活及 $\alpha 2$ -AR/cAMP的协同作用可调控小肠干细胞的自我更新^[59]。此外,该策略已在胰腺、内耳等多器官系统中得到扩展,特异性细胞的诱导比例有较大幅度提高。在胰腺导管类器官的构建中,通过Forskolin、Trolox、ZnSO₄和SB590885等4个小分子成功富集Sox9⁺导管细胞,且包含多种导管细胞亚型^[60]。通过优化小分子诱导体系,在已报道的7个小分子组合基础上^[61]对BMP和PKC信号通路进行调控,实现一步法生成内耳类器官^[62]。这一方法大幅提升了毛细胞的形成比例,Brn3c⁺毛细胞比例达25%,Myosin7a⁺细胞达22%。在类器官中富集特定细胞亚群的策略同样适用于肿瘤研究,针对某些特定癌细胞进行扩增提取,以解析研究肿瘤异质性和药物敏感性^[63-64]。通过提高类器官中移植目标细胞的数量或建立稳定的体外扩增体系,可以有效增加移植成功率,同时简化制备流程、降低成本,从而推进临床转化应用。

1.2 移植整合效率低下的改进机制

传统细胞移植治疗中会面临移植细胞存活率低、宿主组织整合效率差及免疫排斥风险高等问题, 严重制约临床疗效。类器官技术优化细胞方案为突破上述局限提供帮助。而类器官本身也有利于促进移植后的细胞存活, 有效增强与宿主组织器官的整合能力。在移植过程中, 类器官同步释放信号或因子, 诱导宿主细胞启动内源性的组织再生过程。此外, 考虑不同个体疾病发生的差异性和组织间关联性, 针对不同个体和人群的治疗方案应有所差异。构建患者衍生的自体类器官可以在移植治疗时避免免疫排斥等问题, 同时提高移植成功率, 为个性化治疗提供有力工具(图2)。

1.2.1 利于移植后细胞的存活与整合 对于移植治疗中维持细胞的存活和促进与宿主的整合, 类器官技术通过多细胞系统的协同作用在改善这类问题方面显示出重要潜力。一方面, 类器官中的多种细胞类型形成旁分泌信号网络, 可在一定程度上对抗体内炎症环境带来的细胞凋亡和失活, 提高移植后细胞的存活率。加入内皮细胞和间充质细胞, 在不影响肝上皮细胞定向分化的情况下, 促进肝胆类器

官的大规模形成^[65]。其中, 肝细胞与内皮细胞受到 VEGF、肝细胞生长因子 (hepatocyte growth factor, HGF) 等因子相互调节, 而间充质细胞则提供相应的基质支撑和信号调控。另一方面, 类器官自身的内部微环境为移植细胞提供了多重保护, 有效提高了移植后的细胞存活率。在心脏类器官中, 心肌细胞、成纤维细胞和内皮细胞通过旁分泌信号相互支持, 增强细胞抗凋亡能力^[66-67]。这种内在抗凋亡信号网络为提高存活率提供了重要机制基础。此外, 类器官在体外培养过程中已经建立了 ECM 网络和细胞间连接, 细胞具备了主动分泌和重塑 ECM 的能力, 这为移植后其与宿主组织的整合提供了分子基础。在 3D 胶原水凝胶结构支持下将心肌细胞与基质细胞混合构建成工程化心肌组织时, 基质细胞发挥了重要作用: 在移植早期血管化尚未建立时, 基质细胞通过旁分泌信号增强心肌细胞对缺氧环境的适应能力; 同时释放生长因子促进血管化生成, 为心肌细胞提供长期存活支持^[68]。

成功的细胞移植不仅要求移植细胞存活, 更需要与宿主组织形成功能性整合。在体外创造出与体内环境相似的类器官模型, 可以使细胞提前适应从

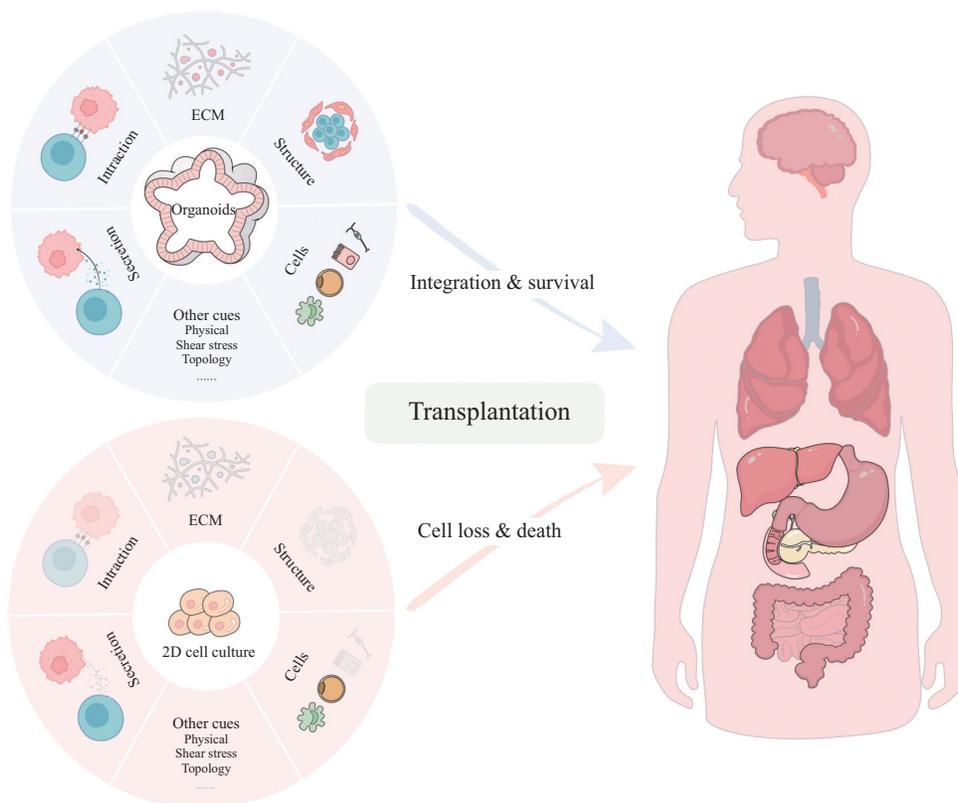


图2 类器官在移植治疗与传统培养中的优势比较

Fig.2 Comparative advantages of organoids versus traditional cultured cells in transplantation therapy

而在细胞移植时实现较好的过渡。中枢神经类器官中的神经干细胞在脊髓损伤移植后能在宿主中实现较长时间的留存和分化,块状类器官作为体外成熟细胞组织可有效填补脊髓横断面空缺。类器官中富集的激活态小胶质细胞迁移至损伤部位与分化出的神经元同步参与神经修复^[69]。REZA等^[70]创造出具有多区结构的肝类器官,模拟人类肝脏从“门静脉到中央静脉”的功能梯度,在参与修复胆管损伤问题中展现较好的治疗水平,有效提高大鼠生存率。此外,还有报道一种拥有双潜能肝祖细胞的肝类器官(human ESC-derived, expandable hepatic organoids, hEHOs)在肝损伤小鼠模型中移植后的存活率显著提高,与原代人肝细胞移植组相似^[71]。移植后的祖细胞通过与宿主肝细胞的接触及旁分泌信号诱导,可在体内分化为成熟的肝细胞,并实现功能分区。移植后的hEHOs部分细胞仍保留持续增殖能力,存活小鼠肝实质被重新补充20%左右,有效促进肝组织的持续再生。

1.2.2 促进内源性组织再生修复 类器官移植的特色优势在于不仅提供外源性功能细胞,还能激活宿主自身的再生修复机制,实现“移植+再生”的双重治疗效果。利用类器官进行移植修复不仅提供了功能细胞,而且类器官本身也作为递送载体,分泌营养因子和蛋白因子,从而增强了宿主自身细胞对损伤及炎症的抵抗性,诱导了宿主细胞的再生。重编程得到人源神经类器官移植至脊髓损伤小鼠的损伤部位,能够分化出多种神经元亚型,有效减少脊髓组织的萎缩^[72]。移植后类器官分泌的神经营养因子[包括脑源性神经营养因子(brain-derived neurotrophic factor, BDNF)、神经生长因子(nerve growth factor, NGF)等]及类器官本身的物理结构对宿主结构起到再生和支撑作用。研究者开发小肠化结肠类器官尝试对短肠综合征进行治疗^[73]时,在异体移植后观察到宿主结肠内产生类似小肠的淋巴及血管结构,表明类器官可能通过分泌信号因子(如VEGF)重塑宿主的淋巴血管系统,宿主体内持续的肠液流动环境促进类器官再生出体内的绒毛结构。

1.2.3 助力个性化治疗 免疫排斥是细胞移植治疗面临的重要挑战,免疫调控技术的介入对指导类器官更有效的移植起到推动作用。类器官技术通过基因编辑和免疫调节实现了免疫相容性的精确控制。在体外利用CRISPR-Cas9敲除 $\beta 2$ 微球蛋白生成

的肾类器官可避免CD8⁺ T细胞介导的排斥反应,但在移植后的体内效果却不佳。这提示其可能通过调节人类白细胞抗原II类信号转导,从而防止移植后的免疫排斥问题^[74]。在iPSC中过表达PD-L1后诱导分化生成的胰腺类器官(human islet-like organoids, HILOs),通过PD-L1与T细胞PD-1受体结合传递抑制信号,实现免疫逃逸并长期维持葡萄糖稳态^[75]。内源性免疫调节提供了避免基因改造的替代方案,通过干扰素- γ 刺激诱导类器官内源性PD-L1表达,同样可实现免疫耐受效果。此外,自体来源构建的类器官可避免免疫排斥问题。从患者皮肤成纤维细胞或血液细胞重编程获得iPSC,再诱导分化为特定器官的类器官,保持了患者的完整基因背景^[4-5]。在肠道类器官移植治疗炎症性肠病的研究中,自体来源类器官移植避免了免疫排斥反应,成功重建了健康的上皮^[76]。

类器官模型能够在体外重现患者对不同治疗方案响应模式,通过比较不同药物或治疗策略的效果,为每位患者筛选出较为适合的治疗方案^[77]。这种个性化的治疗评估不仅提高了治疗成功率,也避免了无效治疗带来的副作用和资源浪费。对于单基因遗传疾病,可先从患者获得iPSC,使用基因编辑矫正致病突变,再诱导形成功能性类器官进行移植,这种方法既能产生正常功能蛋白缓解疾病症状,又避免了免疫排斥风险。类器官的个性化构建有望通过解析患者特异性病变特征,结合基因编辑、细胞外基质仿生重构等技术,开辟全新路径进行精准干预。

2 类器官驱动的治疗模式创新

基于上述的机制性解决方案,类器官技术进一步推动了细胞制备理念的发展,从“单细胞制备”转向“组织化制备”的重要模式。这种新模式不再追求单一细胞类型的纯化扩增,而是维持多种细胞类型的协同共存,通过3D微环境支持实现细胞群体的整体优化。在免疫治疗领域,胸腺类器官制备的CAR-T细胞展现出更高的均一性和标准化生产能力,相比传统制备方法,在功能稳定性和治疗持久性方面都有较大提升^[78-79]。基于这种转变,组织化制备模式的核心价值在于重新定义了细胞治疗产品的质量标准。传统制备关注单一细胞的数量和纯度,而新模式强调细胞群体的功能协调和微环境完整性。

这种制备理念的发展还体现在产品形态的转变上。3D培养的间充质干细胞在分泌功能和治疗效果方面均优于传统2D培养细胞,其分泌的外泌体具有更强的免疫调节能力和组织修复功能^[80-83]。这种制备理念的转变为基于外泌体的无细胞治疗开辟了新的发展方向。功能成熟度的系统性提升代表了制备模式变革的重要成果。类器官制备的细胞通过多细胞协同环境获得接近生理状态的功能成熟度,在干细胞维持、分化调控、功能表达等方面都表现出传统方法难以达到的优势^[46-47]。这种制备模式的转变为细胞治疗的产业化发展提供了可复制、可放大的技术路径,推动行业从手工作坊式生产向工业化标准化制造转型。

传统医疗模式侧重于采用“标准化治疗”方案,该方案依据统计学数据,为特定疾病设计出一套相对统一的治疗策略。这种模式虽然具有普适性和可操作性,但难以充分考虑患者个体差异,治疗效果往往存在较大变异,部分患者可能无法获得理想治疗效果。随着精准医学理念的兴起,医疗模式正在向个性化方向转变。通过构建基于患者自身细胞的类器官模型,医生可以在治疗前构建个性化的疾病模型和治疗响应预测系统,为每位患者设计较为适合的治疗策略。患者来源的肿瘤类器官能够忠实反映个体的肿瘤生物学特征,为治疗方案的个性化筛选和优化提供可靠的体外平台^[77]。癌症特异性抗原的发现为个性化免疫治疗提供了新的靶点,类器官平台能够有效筛选和验证这些个性化治疗靶标^[63]。此外对于遗传性疾病,基因编辑与类器官技术的结合提供了“个性化基因治疗”的新模式,既能针对性地矫正患者特异性的基因缺陷,又能避免免疫兼容性问题。通过持续培养患者来源的类器官,医生可以模拟和预测治疗过程中疾病的演变轨迹,及时调整治疗策略,实现真正意义上的精准医疗。

3 综合治疗改进的实例验证

3.1 神经损伤治疗中的多场景网络重构

神经系统损伤修复由于需要重建复杂网络连接而极具挑战性。从早期帕金森病iPSC多巴胺神经元治疗^[7-8]到血管化神经免疫类器官模型^[31]的发展,类器官技术通过构建3D神经微环境和多细胞协同网络,为不同类型神经损伤提供了系统性治疗解决方案。在脊髓损伤治疗中,移植的神经类器官能分化出

多种神经元亚型并形成功能性网络连接,在动物模型中显示出优于传统神经干细胞移植的效果^[72]。类器官在移植到完全性脊髓损伤模型中时还可充当连接脊髓组织的桥梁,保持脊髓细胞特征。在色素性视网膜炎模型中,移植hNRSCs可缓解视网膜退化,改善视觉功能^[52]。类器官神经治疗的重要价值在于实现了从被动细胞补充向主动网络重建的模式转变。类器官中获得的视网膜祖细胞具有与胎儿神经干细胞相似的特征,为神经修复提供高质量细胞来源^[41]。通过3D微环境培养的神经元具有更完善的突触连接和神经传导特性。类器官携带的激活态小胶质细胞移植后能迁移至损伤部位,通过分泌神经营养因子促进宿主神经元存活和轴突再生,同时清除炎症介质并分泌抗炎因子^[69]。这种系统性治疗不仅提供新神经元补充,更通过多重机制有效减少继发性神经元死亡,保护残存神经功能。

3.2 心肌梗死治疗中的电生理重建进展

心肌梗死后的心功能重建长期以来面临细胞存活率低、机电耦合不良等技术瓶颈,传统心肌细胞移植由于心律失常风险而受到临床应用限制。随着研究从早期动物模型发展到非人灵长类临床前试验^[24,84-85],类器官技术在心肌修复领域的重要贡献在于有效解决了电生理耦合这一技术难题,通过重建3D心肌微环境实现了移植细胞与宿主组织的功能性整合。微环境中的其他细胞为心肌细胞功能成熟提供了关键支撑。成纤维细胞和内皮细胞通过旁分泌信号网络为心肌细胞提供生理性发育信号,促进收缩蛋白正确表达和电生理特性成熟化,使培养的心肌细胞更接近成体功能状态。类器官环境还有利于心肌祖细胞的获得与维持,这些细胞具备向心肌细胞、平滑肌细胞和内皮细胞分化的多向潜能,并能构建具有预建立细胞间连接和细胞外基质网络的心肌微组织,为移植后快速整合创造条件^[66-67,86-87]。TAN等^[88]通过在人类心脏类器官中引入导电硅纳米线,在大鼠心肌梗死后移植中发现,类器官区域的缝隙连接蛋白Cx-43表达量增加,与宿主心肌形成更多缝隙连接,可有效规避心律失常问题。同时,移植后血管化程度显著提升,为细胞长期存活提供充足供应,多细胞协同增强了细胞抗凋亡能力^[66-67]。在仅使用传统方法1/20细胞量的情况下,类器官移植组实现了更好的恢复效果,充分体现了从单细胞替代向功能重建转变的治疗价值。

4 类器官平台助力CAR-T细胞治疗

CAR-T细胞治疗技术的问世为血液系统恶性肿瘤的患者带来了希望。从最初的概念验证^[89-90]到临床应用的成功^[91], CAR-T细胞治疗作为近年来免疫治疗领域的重要突破, 展现出治疗血液恶性肿瘤的巨大潜力^[90]。改造后的T细胞可以精准靶向并消灭特定的肿瘤细胞, 并带动患者自身免疫系统进行持久性的肿瘤清除工作。但CAR-T细胞治疗在实体瘤中的应用进展有限, 受到免疫抑制微环境和肿瘤抗原异质性限制, 仍存在较大困难^[91]。传统CAR-T细胞制备面临细胞来源限制、功能衰竭、制备标准化困难等挑战^[92]。胸腺类器官制备的CAR-T细胞展现出特色优势。与传统外周血单核细胞(peripheral blood mononuclear cell, PBMC)来源的CAR-T细胞相比, iPSC来源的CAR-T细胞具有更强的增殖能力和更低程度的分化状态, 能够改善传统CAR-T细胞制备中面临的供体细胞质量差异和扩增限制问题^[93]。类器官分化后的T细胞保留单一克隆的T细胞受体库(T-cell receptor, TCR), 均一性更高, 且可实现大规模标准化生产^[79,93]。此外, 类器官培养体系中CAR的低表达水平可降低细胞耗竭风险, 同时也可保持良好的体外活性和肿瘤细胞杀伤效应^[79]。大规模标准化的CAR-T细胞生产及不同CAR构建体的适用性表明, 类器官培养体系可很好地模拟体内胸腺微环境, 弥补传统培养工艺缺陷, 为临床应用规模化生产和质量控制提供技术保障。

5 讨论与展望

随着新兴类器官技术如胎盘滋养层干细胞类器官^[94]、尿道芽类器官^[48]等特殊组织模型的建立, 以及损伤修复特异性类器官模型的发展^[55], 类器官技术推动了细胞治疗的发展, 同时其应用范围也在不断扩展。近期美国食品药品监督管理局(Food and Drug Administration, FDA)发表声明, 称将使用类器官、人类细胞系, 以及器官芯片系统等“新方法”逐步代替动物实验, 意在缩短新药开发的周期, 降低研发成本。显然, 类器官技术已在诸多方面达到甚至超越行业评估标准, 成为新药安全性评价的优选方案。

然而, 类器官在迈向大规模临床应用的道路上, 仍面临技术、转化及发展方向上的重大挑战。某些类器官中细胞成熟度仍不够充分。心脏类器官中的

心肌细胞多表现为胚胎期特征, 缺乏成体心肌的完整电生理特性。神经类器官中神经元的功能成熟度仍有待进一步提升。解决这一挑战需要进一步优化培养条件、延长培养时间, 并探索机械刺激、电刺激等物理因素共同作用促进细胞成熟。类器官的移植效果难以精确预测, 需要建立更精确的整合预测模型, 开发标准化的移植前评估体系, 以及优化移植时机和方式的选择策略。另外, 类器官在批次间一致性方面仍存在挑战。想要实现大规模生产, 需探索更优构建方案, 明确培养成分, 建立严格标准化操作流程, 开发自动化培养设备, 并实现实时质量控制, 以确保产品的一致性和可重复性。

展望未来, 在多学科优势共同助力下类器官技术将向着智能化、精准化和系统化治疗方面进行进一步深入探索。近期提出的“赛博格类器官”通过半机械体嵌入式提高对类器官内部的细胞间互作、电生理活动监测以及结合其他技术对类器官进行空间描绘^[95]。类似的“类器官芯片”也将是未来研究方向, 将从单器官治疗向多器官系统化治疗发展。通过构建“器官芯片”系统, 实现多个器官类器官的功能性连接, 模拟完整的生理网络。这种系统化方法将特别适用于复杂疾病的治疗, 如糖尿病并发症、心肾综合征等, 通过协调多器官功能实现疾病的有效治愈。损伤修复特异性类器官模型的发展也为组织再生提供了更精确的治疗策略^[55], 这类模型能够重现特定损伤条件下的细胞响应和修复过程, 为开发针对性的再生治疗方案提供重要基础。对于类器官产生的海量、高维的动态数据, 人工智能(artificial intelligence, AI)可进行大规模深度解析, 指导类器官培养优化及药物筛选, 将类器官从静态模型转化为动态预测系统。在AI算法的支持下研究人员整理构建了目前最大规模人类神经类器官细胞图谱(human neural organoid cell atlas, HNOCA), 可有效与人脑早期发育数据及疾病模型数据进行比对, 同时HNOCA作为重要数据来源可以为后续新的神经类器官培养方案的对比评价和协助分析提供参考^[96]。AI技术与类器官研究的深度融合将实现治疗方案的智能化设计, 通过机器学习算法分析大量类器官数据, 预测更优的培养条件、细胞分化路径和治疗效果, 深度学习模型可以整合患者基因信息、疾病特征和治疗历史, 为每位患者设计个性化的类器官治疗方案, 有效提升治疗精准度和成功率。未来的类器官细胞治疗

将实现更高层次的精准化, 整合遗传背景、表观遗传、微环境、代谢状态等多维信息, 以模拟体内环境并支持治疗策略的开发。通过单细胞多组学技术深度解析患者特异性的疾病机制, 设计针对性的治疗策略, 完善复杂个体病例的精准治疗。

如今, 类器官技术正处于从概念验证向临床应用的重要转折点。随着技术挑战的逐步解决和监管环境的不断完善, 深度融合生物工程、AI智能、材料科学、大数据模型等多学科领域优势, 类器官驱动的细胞治疗将从当前的“主动重建”进一步发展为“智能重建”和“系统重建”, 为人类健康事业带来重要影响。

参考文献 (References)

- [1] EVANS M J, KAUFMAN M H. Establishment in culture of pluripotential cells from mouse embryos [J]. *Nature*, 1981, 292(5819): 154-6.
- [2] THOMSON J A, ITSKOVITZ-ELDOR J, SHAPIRO S S, et al. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts [J]. *Science*, 1998, 282(5391): 1145-7.
- [3] TAKAHASHI K, YAMANAKA S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors [J]. *Cell*, 2006, 126(4): 663-76.
- [4] YU J, VODYANIK M A, SMUGA-OTTO K, et al. Induced pluripotent stem cell lines derived from human somatic cells [J]. *Science*, 2007, 318(5858): 1917-20.
- [5] GUAN J, WANG G, WANG J, et al. Chemical reprogramming of human somatic cells to pluripotent stem cells [J]. *Nature*, 2022, 605(7909): 325-31.
- [6] PATEL K K, TARIVERANMOSHABAD M, KADU S, et al. From concept to cure: the evolution of CAR-T cell therapy [J]. *Mol Ther*, 2025, 33(5): 2123-40.
- [7] SAWAMOTO N, DOI D, NAKANISHI E, et al. Phase I/II trial of iPSC-cell-derived dopaminergic cells for Parkinson's disease [J]. *Nature*, 2025, 641(8064): 971-7.
- [8] TABAR V, SARVA H, LOZANO A M, et al. Phase I trial of hES cell-derived dopaminergic neurons for Parkinson's disease [J]. *Nature*, 2025, 641(8064): 978-83.
- [9] HOSSEINI S M, BORYS B, KARIMI-ABDOLREZAEI S. Neural stem cell therapies for spinal cord injury repair: an update on recent preclinical and clinical advances [J]. *Brain*, 2024, 147(3): 766-93.
- [10] LIU P, MAO Y, XIE Y, et al. Stem cells for treatment of liver fibrosis/cirrhosis: clinical progress and therapeutic potential [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2022, 13(1): 356.
- [11] PITTENGER M F, MACKAY A M, BECK S C, et al. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells [J]. *Science*, 1999, 284(5411): 143-7.
- [12] PROCKOP D J. Marrow stromal cells as stem cells for nonhematopoietic tissues [J]. *Science*, 1997, 276(5309): 71-4.
- [13] REICHMAN S, TERRAY A, SLEMBROUCK A, et al. From confluent human iPSC cells to self-forming neural retina and retinal pigmented epithelium [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2014, 111(23): 8518-23.
- [14] ZHANG Y, NAGURO I, HERR A E. *In Situ* single-cell western blot on adherent cell culture [J]. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2019, 58(39): 13929-34.
- [15] DEL ÁLAMO J C, LEMONS D, SERRANO R, et al. High throughput physiological screening of iPSC-derived cardiomyocytes for drug development [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2016, 1863(7 Pt B): 1717-27.
- [16] 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.
- [17] HE G W, LIN L, DEMARTINO J, et al. Optimized human intestinal organoid model reveals interleukin-22-dependency of paneth cell formation [J]. *Cell Stem Cell*, 2022, 29(9): 1333-45.e6.
- [18] BAXTER M, WITHEY S, HARRISON S, et al. Phenotypic and functional analyses show stem cell-derived hepatocyte-like cells better mimic fetal rather than adult hepatocytes [J]. *J Hepatol*, 2015, 62(3): 581-9.
- [19] VUČKOVIĆ S, DINANI R, NOLLET E E, et al. Characterization of cardiac metabolism in iPSC-derived cardiomyocytes: lessons from maturation and disease modeling [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2022, 13(1): 332.
- [20] BROOKS A, LIANG X, ZHANG Y, et al. Liver organoid as a 3D *in vitro* model for drug validation and toxicity assessment [J]. *Pharmacol Res*, 2021, 169: 105608.
- [21] BELLIN M D, BARTON F B, HEITMAN A, et al. Potent induction immunotherapy promotes long-term insulin independence after islet transplantation in type 1 diabetes [J]. *Am J Transplant*, 2012, 12(6): 1576-83.
- [22] GUHA P, MORGAN J W, MOSTOSLAVSKY G, et al. Lack of immune response to differentiated cells derived from syngeneic induced pluripotent stem cells [J]. *Cell Stem Cell*, 2013, 12(4): 407-12.
- [23] SADEK H, OLSON E N. Toward the goal of human heart regeneration [J]. *Cell Stem Cell*, 2020, 26(1): 7-16.
- [24] TANI H, TOHYAMA S, KISHINO Y, et al. Production of functional cardiomyocytes and cardiac tissue from human induced pluripotent stem cells for regenerative therapy [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2022, 164: 83-91.
- [25] WILSON H V. A new method by which sponges may be artificially reared [J]. *Science*, 1907, 25(649): 912-5.
- [26] MARTIN G R. Isolation of a pluripotent cell line from early mouse embryos cultured in medium conditioned by teratocarcinoma stem cells [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1981, 78(12): 7634-8.
- [27] NAKANO T, ANDO S, TAKATA N, et al. Self-formation of optic cups and storable stratified neural retina from human ESCs [J]. *Cell Stem Cell*, 2012, 10(6): 771-85.
- [28] 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.
- [29] BREUNIG M, MERKLE J, WAGNER M, et al. Modeling plasticity and dysplasia of pancreatic ductal organoids derived from human pluripotent stem cells [J]. *Cell Stem Cell*, 2021, 28(6): 1105-24.e19.
- [30] JUN Y, NGUYEN-NGOC K V, SAI S, et al. Engineered vas-

- culature induces functional maturation of pluripotent stem cell-derived islet organoids [J]. *Dev Cell*, 2025, 60: 1-15.
- [31] JI Y, CHEN X, WANG Z, et al. Alzheimer's disease patient brain extracts induce multiple pathologies in novel vascularized neuro-immune organoids for disease modeling and drug discovery [J]. *Mol Psychiatry*, 2025, doi: 10.1038/s41380-025-03041-w.
- [32] 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.
- [33] GOPEE N H, WINHEIM E, OLABI B, et al. A prenatal skin atlas reveals immune regulation of human skin morphogenesis [J]. *Nature*, 2024, 635(8039): 679-89.
- [34] CHAUDHURI O, COOPER-WHITE J, JANMEY P A, et al. Effects of extracellular matrix viscoelasticity on cellular behaviour [J]. *Nature*, 2020, 584(7822): 535-46.
- [35] SUN Z, CHEN Z, YIN M, et al. Harnessing developmental dynamics of spinal cord extracellular matrix improves regenerative potential of spinal cord organoids [J]. *Cell Stem Cell*, 2024, 31(5): 772-87, e11.
- [36] MUN S J, RYU J S, LEE M O, et al. Generation of expandable human pluripotent stem cell-derived hepatocyte-like liver organoids [J]. *J Hepatol*, 2019, 71(5): 970-85.
- [37] SORRENTINO G, REZAKHANI S, YILDIZ E, et al. Mechano-modulatory synthetic niches for liver organoid derivation [J]. *Nat Commun*, 2020, 11(1): 3416.
- [38] FIOROTTO R, MARIOTTI V, TALEB S A, et al. Cell-matrix interactions control biliary organoid polarity, architecture, and differentiation [J]. *Hepatol Commun*, 2023, 7(4): e0094.
- [39] ANDERSSON-ROLF A, GROOT K, KORVING J, et al. Long-term *in vitro* expansion of a human fetal pancreas stem cell that generates all three pancreatic cell lineages [J]. *Cell*, 2024, 187(26): 7394-413, e22.
- [40] WANG D, WANG J, BAI L, et al. Long-term expansion of pancreatic islet organoids from resident procr⁺ progenitors [J]. *Cell*, 2020, 180(6): 1198-211, e19.
- [41] ZOU T, GAO L, ZENG Y, et al. Organoid-derived C-Kit⁺/SSEA4⁺ human retinal progenitor cells promote a protective retinal micro-environment during transplantation in rodents [J]. *Nat Commun*, 2019, 10(1): 1205.
- [42] ZHONG X, GUTIERREZ C, XUE T, et al. Generation of three-dimensional retinal tissue with functional photoreceptors from human iPSCs [J]. *Nat Commun*, 2014, 5: 4047.
- [43] KAWAI K, HO M T, UENO Y, et al. Hyaluronan improves photoreceptor differentiation and maturation in human retinal organoids [J]. *Acta Biomaterialia*, 2024, 181: 117-32.
- [44] HE G W, LIN L, DEMARTINO J, et al. Optimized human intestinal organoid model reveals interleukin-22-dependency of paneth cell formation [J]. *Cell Stem Cell*, 2022, 29(9): 1333-45, e6.
- [45] ELAUT G, HENKENS T, PAPELEU P, et al. Molecular mechanisms underlying the dedifferentiation process of isolated hepatocytes and their cultures [J]. *Curr Drug Metab*, 2006, 7(6): 629-60.
- [46] DEMAIO L, TSENG W, BALVERDE Z, et al. Characterization of mouse alveolar epithelial cell monolayers [J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2009, 296(6): L1051-8.
- [47] YAMAMOTO Y, GOTOH S, KOROGI Y, et al. Long-term expansion of alveolar stem cells derived from human iPSC cells in organoids [J]. *Nat Methods*, 2017, 14(11): 1097-106.
- [48] SHI M, MCCRACKEN K W, PATEL A B, et al. Human ureteric bud organoids recapitulate branching morphogenesis and differentiate into functional collecting duct cell types [J]. *Nat Biotechnol*, 2023, 41(2): 252-61.
- [49] GAO M L, ZHANG X, HAN F, et al. Functional microglia derived from human pluripotent stem cells empower retinal organ [J]. *Sci China Life Sci*, 2022, 65(6): 1057-71.
- [50] MAGGIORE J C, LEGRAW R, PRZEPIORSKI A, et al. A genetically inducible endothelial niche enables vascularization of human kidney organoids with multilineage maturation and emergence of renin expressing cells [J]. *Kidney Int*, 2024, 106(6): 1086-100.
- [51] PRICE F D, MATYAS M N, GEHRKE A R, et al. Organoid culture promotes dedifferentiation of mouse myoblasts into stem cells capable of complete muscle regeneration [J]. *Nat Biotechnol*, 2025, 43(6): 889-903.
- [52] LIU H, MA Y, GAO N, et al. Identification and characterization of human retinal stem cells capable of retinal regeneration [J]. *Sci Translat Med*, 2025, 17(791): eadp6864.
- [53] BASIL M C, CARDENAS-DIAZ F L, KATHIRIYA J J, et al. Human distal airways contain a multipotent secretory cell that can regenerate alveoli [J]. *Nature*, 2022, 604(7904): 120-6.
- [54] IGARASHI R, ODA M, OKADA R, et al. Generation of human adult hepatocyte organoids with metabolic functions [J]. *Nature*, 2025, 641(8065): 1248-57.
- [55] QU M, XIONG L, LYU Y, et al. Establishment of intestinal organoid cultures modeling injury-associated epithelial regeneration [J]. *Cell Res*, 2021, 31(3): 259-71.
- [56] YIN X, FARIN H F, VAN ES J H, et al. Niche-independent high-purity cultures of Lgr5⁺ intestinal stem cells and their progeny [J]. *Nat Methods*, 2014, 11(1): 106-12.
- [57] YANG L, WANG X, ZHAO G, et al. Leveraging temporal wnt signal for efficient differentiation of intestinal stem cells in an organoid model [J]. *Stem Cells Dev*, 2024, 33(1/2): 11-26.
- [58] YANG L, WANG X, ZHOU X, et al. A tunable human intestinal organoid system achieves controlled balance between self-renewal and differentiation [J]. *Nat Commun*, 2025, 16(1): 315.
- [59] ZHOU X, YANG L, SONG S, et al. A modified system to promote stemness of mouse intestinal stem cells by activating Nrf2 and α 2-adrenergic receptor signaling pathway [J]. *Acta Biochim Biophys Sin*, 2025, 57(6): 1-12.
- [60] LIAO Y, LIN Z, LI S, et al. Small molecules enhance the high-efficiency generation of pancreatic ductal organoids [J]. *Acta Biochim Biophys Sin*, 2024, 57(1): 1-11.
- [61] MCLEAN W J, YIN X, LU L, et al. Clonal expansion of Lgr5-positive cells from mammalian cochlea and high-purity generation of sensory hair cells [J]. *Cell Rep*, 2017, 18(8): 1917-29.
- [62] QIN X, FU L, LI C, et al. Optimized inner ear organoids for efficient hair cell generation and ototoxicity response modeling [J]. *Sci China Life Sci*, 2025, 68(5): 1369-83.
- [63] ELY Z A, KULSTAD Z J, GUNAYDIN G, et al. Pancreatic cancer-restricted cryptic antigens are targets for T cell recognition [J]. *Science*, 2025, 388(6747): eadk3487.
- [64] ZHANG Y, WANG Z, HU Q, et al. 3D bioprinted gelmanoclay hydrogels induce colorectal cancer stem cells through activating Wnt/ β -catenin signaling [J]. *Small*, 2022, 18(18):

- e2200364.
- [65] FAN H, SHANG J, LI J, et al. High-throughput formation of pre-vascularized hiPSC-derived hepatobiliary organoids on a chip via nonparenchymal cell grafting [J]. *Adv Sci*, 2025, 12(8): e2407945.
- [66] 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.
- [67] DARDANO M, KLEEMISS F, KOSANKE M, et al. Blood-generating heart-forming organoids recapitulate co-development of the human haematopoietic system and the embryonic heart [J]. *Nat Cell Biol*, 2024, 26(11): 1984-96.
- [68] JEBRAN A F, SEIDLER T, TIBURCY M, et al. Engineered heart muscle allografts for heart repair in primates and humans [J]. *Nature*, 2025, 639(8054): 503-11.
- [69] WANG Z, ZHAO H, TANG X, et al. CNS organoid surpasses cell-laden microgel assembly to promote spinal cord injury repair [J]. *Research*, 2022, 2022: 9832128.
- [70] REZA H A, SANTANGELO C, IWASAWA K, et al. Multi-zonal liver organoids from human pluripotent stem cells [J]. *Nature*, 2025, 641(8065): 1258-67.
- [71] WANG S, WANG X, TAN Z, et al. Human ESC-derived expandable hepatic organoids enable therapeutic liver repopulation and pathophysiological modeling of alcoholic liver injury [J]. *Cell Res*, 2019, 29(12): 1009-26.
- [72] XU J, FANG S, DENG S, et al. Generation of neural organoids for spinal-cord regeneration via the direct reprogramming of human astrocytes [J]. *Nat Biomed Eng*, 2023, 7(3): 253-69.
- [73] SUGIMOTO S, KOBAYASHI E, FUJII M, et al. An organoid-based organ-repurposing approach to treat short bowel syndrome [J]. *Nature*, 2021, 592(7852): 99-104.
- [74] GAYKEMA L H, VAN NIEUWLAND R Y, LIEVERS E, et al. T-cell mediated immune rejection of beta-2-microglobulin knockout induced pluripotent stem cell-derived kidney organoids [J]. *Stem Cells Transl Med*, 2024, 13(1): 69-82.
- [75] YOSHIHARA E, O'CONNOR C, GASSER E, et al. Immune-evasive human islet-like organoids ameliorate diabetes [J]. *Nature*, 2020, 586(7830): 606-11.
- [76] WATANABE S, KOBAYASHI S, OGASAWARA N, et al. Transplantation of intestinal organoids into a mouse model of colitis [J]. *Nat Protoc*, 2022, 17(3): 649-71.
- [77] 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.
- [78] MINAGAWA A, YOSHIKAWA T, YASUKAWA M, et al. Enhancing T cell receptor stability in rejuvenated iPSC-derived T cells improves their use in cancer immunotherapy [J]. *Cell Stem Cell*, 2018, 23(6): 850-8, e4.
- [79] WANG Z, MCWILLIAMS-KOEPPEN H P, REZA H, et al. 3D-organoid culture supports differentiation of human CAR⁺ iPSCs into highly functional CAR T cells [J]. *Cell Stem Cell*, 2022, 29(4): 515-27, e8.
- [80] YUAN X, SUN L, JESKE R, et al. Engineering extracellular vesicles by three-dimensional dynamic culture of human mesenchymal stem cells [J]. *J Extracell Vesicles*, 2022, 11(6): e12235.
- [81] CARTER K, LEE H J, NA K S, et al. Characterizing the impact of 2D and 3D culture conditions on the therapeutic effects of human mesenchymal stem cell secretome on corneal wound healing *in vitro* and *ex vivo* [J]. *Acta Biomater*, 2019, 99: 247-57.
- [82] SUN L, JI Y, CHI B, et al. A 3D culture system improves the yield of MSCs-derived extracellular vesicles and enhances their therapeutic efficacy for heart repair [J]. *Biomed Pharmacother*, 2023, 161: 114557.
- [83] QIAN J, LU E, XIANG H, et al. GelMA loaded with exosomes from human minor salivary gland organoids enhances wound healing by inducing macrophage polarization [J]. *J Nanobiotechnology*, 2024, 22(1): 550.
- [84] LIU Y W, CHEN B, YANG X, et al. Human embryonic stem cell-derived cardiomyocytes restore function in infarcted hearts of non-human primates [J]. *Nat Biotechnol*, 2018, 36(7): 597-605.
- [85] KOBAYASHI H, TOHYAMA S, ICHIMURA H, et al. Regeneration of nonhuman primate hearts with human induced pluripotent stem cell-derived cardiac spheroids [J]. *Circulation*, 2024, 150(8): 611-21.
- [86] 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.
- [87] MEIER A B, ZAWADA D, DE ANGELIS M T, et al. Epicardioid single-cell genomics uncovers principles of human epicardium biology in heart development and disease [J]. *Nat Biotechnol*, 2023, 41(12): 1787-800.
- [88] TAN Y, COYLE R C, BARRS R W, et al. Nanowired human cardiac organoid transplantation enables highly efficient and effective recovery of infarcted hearts [J]. *Sci Adv*, 2023, 9(31): eadf2898.
- [89] BRENTJENS R J, SANTOS E, NIKHAMIN Y, et al. Genetically targeted T cells eradicate systemic acute lymphoblastic leukemia xenografts [J]. *Clin Cancer Res*, 2007, 13(18 Pt 1): 5426-35.
- [90] MAUDE S L, TEACHEY D T, PORTER D L, et al. CD19-targeted chimeric antigen receptor T-cell therapy for acute lymphoblastic leukemia [J]. *Blood*, 2015, 125(26): 4017-23.
- [91] STERNER R C, STERNER R M. CAR-T cell therapy: current limitations and potential strategies [J]. *Blood Cancer J*, 2021, 11(4): 69.
- [92] KÖHL U, ARSENIEVA S, HOLZINGER A, et al. CAR T cells in trials: recent achievements and challenges that remain in the production of modified T cells for clinical applications [J]. *Hum Gene Ther*, 2018, 29(5): 559-68.
- [93] THEMELI M, KLOSS C C, CIRIELLO G, et al. Generation of tumor-targeted human T lymphocytes from induced pluripotent stem cells for cancer therapy [J]. *Nat Biotechnol*, 2013, 31(10): 928-33.
- [94] ZHOU J, SHERIDAN M A, TIAN Y, et al. Development of apical out trophoblast stem cell derived organoids to model early human pregnancy [J]. *iScience*, 2025, 28(3): 112099.
- [95] LIN Z, WANG W, LIU R, et al. Cyborg organoids integrated with stretchable nanoelectronics can be functionally mapped during development [J]. *Nat Protoc*, 2025, 20(9): 2528-59.
- [96] HE Z, DONY L, FLECK J S, et al. An integrated transcriptomic cell atlas of human neural organoids [J]. *Nature*, 2024, 635(8039): 690-8.