类器官芯片在生物医学中的研究进展

吴谦^{1,2}, 潘宇祥¹, 万浩¹, 胡宁³, 王平^{1,2*}

1. 浙江大学生物医学工程与仪器科学学院, 生物传感器国家专业实验室, 生物医学工程教育部重点实验室, 杭州 310027;

2. 中国科学院传感技术国家联合重点实验室, 上海 200050;

3. Biomaterials Innovation Research Center, Center for Biomedical Engineering, Harvard Medical School, Massachusetts 02139, USA

* 联系人, E-mail: cnpwang@zju.edu.cn

2018-08-20 收稿, 2018-12-17 修回, 2018-12-18 接受, 2019-02-26 网络版发表

国家自然科学基金重大仪器专项(31627801)资助

摘要 目前国际上药物筛选技术主要是依据药效学模型进行细胞和动物实验, 测试给药前后的变化, 但是这种初筛方法的效率并不够理想. 近年来, 随着生物技术和信息技术的迅速发展, 使得类器官芯片成为生物医学中极具特色而富有活力的新兴领域. 相比传统的平面细胞培养和动物模型, 类器官具有更接近在体器官的结构和功能的优势, 可以更好地反映人体生理学特性. 结合类器官芯片与微流控技术构建的生理微系统, 可以在体外模拟人体组织器官的主要结构和功能特征. 本文综述了类器官的培养现状、器官芯片的制作和应用以及结合仿生传感技术的研究工作进展. 这些技术研究在药物研发、疾病模型和个性化医疗方面具有广阔的应用前景.

关键词 类器官芯片, 仿生传感技术, 生物医学工程, 生物传感, 药物研发

类器官芯片(organoids-on-chips)是传统器官芯片在生物技术方面的延伸. 近年来随着组织工程和精密加工技术领域的迅速发展, 使得体外类器官培养和类器官芯片成为生物医学中极具特色而富有活力的新兴领域. 它融合了物理、化学、生物学、医学、材料学、工程学和微机电等多个学科, 是典型的交叉前沿科学技术. 器官芯片在概念上包含类器官芯片, 它是一种在芯片上构建的生理微系统, 以微流控芯片技术为核心, 通过与细胞生物学、生物材料和工程学等多种方法相结合, 可以在体外模拟构建包含有多种活体细胞、功能组织界面、生物流体和机械力刺激等复杂因素的组织器官微环境, 反映人体组织器官的主要结构和功能特征^[1]. 而类器官芯片则是将器官芯片中的二维(2D)细胞由三维(3D)细胞或类器官取代. 由于在三维环境培养中有一定剪切力的特性, 其细胞更接近人

体生理学状态并且还具有一些2D细胞所没有的器官功能, 因此类器官芯片将在生物医学领域发挥更大的作用. 目前该领域还处于初级阶段, 国内外对此研究都刚刚开始, 但它的发展对未来人类健康和生物产业有着重要的战略意义. 从2004年最早的器官芯片报道以来^[2], 经历十多年的研究, 器官芯片领域已经取得了巨大的成功, 它以前所未有的方式模拟和见证人体的多种生物学行为, 在开发新药、毒性测试、干细胞研究和了解疾病机制等领域具有重要应用前景. 不过作为其中的重要组成部分, 平面培养的细胞在模拟真正在体生理特性方面还是存在一些不足, 因此用体外3D培养类器官替代芯片中传统2D培养的细胞已经成为目前器官芯片的研究要点; 另外单纯的依靠细胞染色技术检测药效毒理方面的结果也不能满足快速发展的器官芯片领域, 因此与现有先进的检测传感器联合打

引用格式: 吴谦, 潘宇祥, 万浩, 等. 类器官芯片在生物医学中的研究进展. 科学通报, 2019, 64: 902–910

Wu Q, Pan Y X, Wan H, et al. Research progress of organoids-on-chips in biomedical application (in Chinese). Chin Sci Bull, 2019, 64: 902–910, doi: [10.1360/N972018-00860](https://doi.org/10.1360/N972018-00860)

造一体化的高内涵多参数仪器系统将是未来发展的趋势。

1 类器官研究现状

在过去几十年里, 体外3D细胞培养技术的发展使得科学家们研究一种更接近人体生理学特性的新型组织成为可能^[3]。类器官是指在结构和功能上都类似某种器官或组织的模拟物, 其中包含由干细胞或祖细胞独立扩增并且分化的器官特异性上皮组织。在基质胶的包埋下, 不同来源的干细胞可以增殖分化并自组装成类器官的结构, 而且还具备一定的器官功能, 因此得名类器官^[4]。Lancaster 等人^[4]认为类器官是源于多能干细胞或器官祖细胞且具有胚层特异性的类器官体, 其包含目标器官中至少一种细胞类型, 能够自组装为器官样结构并具有其生理结构和功能特征。

最早在2009年, Sato等人^[5]证明3D上皮样的小肠类器官可以通过单个富含LGR5标记的小肠干细胞培养而成。在基质胶的包埋下, 小肠干细胞需要在无血清的条件(模拟体内干细胞龛)下再添加R-spondin, LGR5配体, 表皮生长因子以及骨形态生成蛋白进行培养^[6,7]。这种培养条件下的干细胞可以生长分化形成小肠隐窝和绒毛这样的器官特性组织并且高度极性的表皮样结构。进一步的研究结果显示, 将体外培养的结肠类器官移植到硫酸葡聚糖诱导的急性结肠炎小鼠模型中可以修复其受损的结肠上皮^[8], 这表明利用单一成人结肠干

细胞体外扩增进行结肠干细胞治疗是可行的。目前, 研究者甚至在人类肠类器官上已经实现了用CRISPR-Cas9技术对其进行基因编辑, 达到模拟结肠癌的效果^[9]。这种类器官培养体系能够对治疗肠道相关疾病的药物进行筛选, 还能应用于一些细胞因子对肠道损伤修复作用的研究^[10]。

这种培养方法开创了一个类器官培养时代, 接下来多种鼠源或是人源的表皮样类器官开始涌现, 其中包括结肠^[11,12]、肝^[13]、胰腺^[14]、前列腺^[15,16]、胃^[17]、输卵管^[18]、味蕾^[19]、唾液腺^[20]、食道^[21]、肺^[22]、子宫内膜^[23]和乳腺^[24]。类器官可以长期培养、冻存和基因改造, 这也使得它成为研究者眼里一个优秀的疾病模型来源。在医学上, 癌是指起源于上皮组织的恶性肿瘤, 具有难以早期发现、病程快、致死率高等特点。因此, 作为疾病模型癌症类器官成为了一个热点领域, 表1列举了现在已经报道培养成功的癌症类器官。目前, 类器官不仅是研究组织及器官发生、发展的有效工具, 还能用于药物疗效和药物毒理学性质的检测, 更重要的是可以利用患者来源的干细胞深入研究疾病的发生机制、进行细胞和基因治疗。另外, 除了添加各种特定的生长因子来诱导分化干细胞外, Kuo课题组^[26]发表了一种全新的类器官培养方法, 即在气液界面上培养基质支持细胞来提供必要的生长因子。这种方法增强了细胞的增殖和多向分化, 使得更大的球形类器官得以产生。

表1 已报道的可以成功培养的癌症类器官种类^[25]

Table 1 Overview of the currently available tumour organoid collections^[25]

癌症类型	来源	报道数量	成活率(%)
结直肠癌	原发瘤	20	~90
		55	~100
	转移组织	8	~70
	原发和转移组织	35	~60
胃肠癌	转移组织	23	~70
胰腺癌	原发瘤	8	~80
		17	~85
	原发瘤和腹水样本	39	~80
前列腺癌	转移组织和循环肿瘤细胞	7	~15~20
乳腺癌	原发瘤	>100	~80
肝癌	原发瘤	7	~100
多种癌症类型	原发瘤	56	~37(平均)

目前,类器官的研究也存在一些局限.比如,虽然类器官在体外实验中表现出自我更新和分化的能力,但是传代次数有限;再者,体外培养大量细胞或组织一直存在无法再现生物体内的血管网络,从而造成营养代谢障碍的问题.但这些缺陷一定程度上可以结合微纳加工和微流控等工程技术得以解决,因此类器官芯片有着巨大的研究前景.

2 器官芯片和类器官芯片

器官芯片的尺寸较小,培养腔一般在毫米甚至微米级别,这就避免了一次实验过程中使用过多细胞的浪费现象;而且多个培养腔的集成检测也提高了通量,适合更多种药物浓度梯度实验和不同的对照实验,更让单细胞或单个类器官的个体差异性研究成为可能.另外,微流控作为器官芯片的核心技术就相当于生物体内负责运输的血管,这就很好地解决了传统培养方式中营养代谢障碍的问题.

2.1 器官芯片

最早的器官芯片是由Huh等人^[27~29]开发的肺芯片,它是一种载玻片大小的双层夹膜结构,一侧用于气流通过,另一侧用于培养液通过,在中间多孔的PDMS膜两侧分别培养气管上皮细胞和血管内皮细胞,从而达到模拟人体肺泡的气液界面的效果;另外在肺芯片的两侧以循环抽真空的形式拉扯PDMS膜,使得培养在上面的细胞受到类似肺牵张作用,模拟肺泡呼吸的效果,这显示了器官芯片的初级功能化(图1(a)).在肺器官芯片基础上,研究者通过在微通道中加入白细胞介素2,建立了肺水肿病理学模型;也通过气路改进,控制有节律性的气体进出,研究吸烟对肺细胞的影响以及损伤反应(图1(b))^[30].该系列研究证实了肺芯片不仅可以模拟肺部疾病的病理过程,也发现了周期性呼吸运动在肺部疾病发生发展中的重要作用,为呼吸系统疾病研究提供了一种新的思路.

在肺器官芯片之后,相继出现了肝器官芯片^[31]、肾器官芯片^[32,33]和血脑屏障芯片^[34]等.肝器官芯片是将肝细胞和内皮细胞精确地分层种植,并在流动的培养基中共培养可以构建出有特定结构的类肝血窦模型.肾器官芯片通过多维分区的功能化芯片设计与构筑构建了含有原代肾小球组织(肾小球内皮细胞和足细胞等)、基质成分和血管样机械流体的动态三维系统,能够模拟生理上的肾小球微环境和功能特征.血脑屏障

图1 (网络版彩色)肺器官芯片构建(a)和体外吸烟模型(b)^[27,30]
Figure 1 (Color online) Lung-on-a-chip (a) and the application in smoking model (b)^[27,30]

芯片利用多维网络结构构建包含有多种脑细胞、细胞外基质和机械流体条件等核心要素的动态三维血脑屏障模型,此芯片接近生理环境的结构功能特性,并实现了对临床抗肿瘤药物穿透屏障能力的筛选与评价.这些器官芯片都通过微流控技术解决了持续新鲜培养基以及后续药物等的供给问题,而且也通过工程手段实现了部分人体器官的功能,但在细胞培养方面都是以2D培养的细胞为基础,所以还是存在不够接近在体生理状态的局限性.

2.2 类器官芯片

近年来,基于3D细胞的类器官芯片研究也日渐出现. Au等人^[35]研制了一种基于微流控技术的肝类器官药物筛选平台,它可以控制单个细胞凝胶团的运动,从而达到对单个类器官的检测效果,这样既能节省类器官使用数量,又可以提高实验通量(图2).肝类器官是通过HepG2细胞和NIH-3T3细胞在水凝胶的环境下共培养而成的.实验证明,这种类器官不仅展现出纤维细胞依赖的收缩特性,而且白蛋白的分泌和细胞色素P450 3A4的活性都比2D培养的细胞要好(图2(b)).研究者还利用该芯片成功检测了不同浓度的对乙酰氨基酚(APAP, 常见于泰诺)对肝类器官凋亡和坏死的情况.另外, Skardal等人^[36]在有平行流道的PDMS模具内,利用紫外线交联的透明质酸聚合物来原位构造微小肝组织.

图2 (网络版彩色)肝类器官芯片的研究^[35]. (a) 3D肝类器官微流控药筛装置; (b) 通过荧光强度比较2D与3D培养细胞对药物作用的反应
Figure 2 (Color online) Research of liver-on-a-chip^[35]. (a) Microfluidic organoids for drug screening (MODS) platform; (b) drug response of cell culturing in 2D and 3D environment through fluorescence intensity

经过一周的培养就可以得到用于肝毒性检测的稳定3D组织。

最近, 秦建华团队^[37]发表了一个以人诱导多能干细胞(hiPSCs)分化的肝类器官所制的三维灌注芯片。这项国际领先的研究成果不同于其他以3D共培养细胞为对象的类器官芯片, 首次真正做到了把类器官引入到芯片中, 并做了不同浓度的APAP药物毒性实验, 这对人们了解器官形成、疾病机理和药物测试有着巨大的推进作用。近年来, 癌症类器官的研究也是一大热点, 因此越来越多的癌症类器官芯片也开始涌现。它不仅评价各种新开发药物对癌症的治疗效果, 也可以研究肿瘤发生和发展的机制^[38]。由细胞系或是病人来源的肺癌细胞形成的3D球体也是抗癌药物敏感性筛选的良好载体, 而且3D球体还可以与成纤维细胞共培养, 研究发现共培养体系的3D球体有更强的抗药性^[39]。另外, 也有学者将癌症类器官芯片用于全新的治疗方法的研究, Yang等人^[40]制作了一种3D乳腺癌芯片来评价光能疗法(PDT)效果。类器官芯片的用途非常广泛, 利用工程学原理和多学科集成手段构建了3D类器官模型以及多器官集成芯片系统, 可以对基础生物学研究、毒性测试和干细胞等多个领域产生深远的影响。

3 类器官芯片与传感器的结合

目前的类器官芯片还基本处于以微流控为核心的研究阶段, 各种流道的设计都是有利于培养环境的改进, 使得类器官更接近人体生理状态。但是芯片中的类器官在药物作用响应方面的检测一般都使用传统的细胞染色技术, 然后再通过荧光显微镜来判别细胞活性^[41]。这种方法不仅操作复杂, 花费较高, 而且很难做到对类器官的动态实时检测, 因此引入传感器检测将是一个很好的选择。

首先类器官芯片与电阻抗传感器的结合可以实现动态检测类器官的整体生长情况。Eichler等人^[42]研究了平板2D细胞和立体3D球体细胞在阻抗传感器表面的响应, 发现这两者之间具有显著差异性。这可能是因为2D和3D模型的边缘细胞形态不一致, 且两种模型细胞之间、细胞与细胞基质之间的相互作用也不一样。但该研究是在96孔细胞培养板上完成的, 因此还未达到类器官芯片中培养液循环更新的效果。传统的电阻抗传感器在检测水凝胶包被下的类器官会受到水凝胶绝缘的影响, 因此在细胞生长或是凋亡过程中难以检测到细胞指数(CI)值的改变。笔者团队正在克服此项难

点,目前主要有两个方向有望突破.一是将某种导电的物质混入在水凝胶中与细胞一起培养.这对材料的要求较高,不仅需要物质微粒直径小(纳米级别),而且还需要很好的导电性,最重要的是其生物相容性,在培养过程中不能影响细胞活性;二是通过设计专门的3D阻抗传感器,检测凝胶和细胞总体的阻抗.由于凝胶的阻抗值在培养过程中基本稳定不变,细胞在低频率时被视为非导体,因此凝胶/细胞结构的总阻抗值主要由细胞数目决定.通过分析总阻抗值的变化趋势,可以进一步分析3D培养的细胞活性和数目^[43].图3所示的为我们自主研发的3D阻抗传感器,它可以实时监测3D细胞或类器官的对于不同药物的反应.

如果仅仅检测细胞的增殖与凋亡这一参数,对于类器官芯片最重要的应用药物筛选来说显然不够全面.比如作用于心脏或是神经细胞的药物,我们需要了解其对细胞发放电信号的频率和幅值的改变.这就需要仿生芯片与微电极阵列(MEA)传感器的结合. Frega等人^[44]构建了动态检测3D海马神经元网络的MEA传感器芯片.体外3D神经网络是将细胞培养在功能型支架上构成的,这种体系将对刺激和记录神经元活动和研究神经生理学机能有很大帮助.笔者团队也做了此方面研究(图4):将原代心肌细胞种植在通过3D打印制成的具有空间结构的支架上,打印的墨水材料为聚乳酸

和聚己内脂.经过一段时间的培养,心肌细胞之间会相互连接形成三维网络结构,同时产生有节律的电信号发放.我们设计的MEA芯片可以检测生长在3D支架上的心肌细胞胞外场电位信号(EFP)幅值和发放频率,以及不同药物对电位信号的影响,同时在不同材料和形状的支架里选择最优的方案.

除了电位信号,类器官培养微环境中的各种离子和蛋白大分子标志物的含量也是药物筛选中重要的指标.在基础生物学应用领域,光寻址电位传感器(LAPS)通常用于监测细胞的代谢,主要是能量代谢产生的酸性产物的检测^[46].细胞通过新陈代谢维持正常的生理活动,细胞摄入各类营养物质,通过糖酵解或者呼吸作用,产生能量ATP,同时排出乳酸或者二氧化碳,这些酸性产物会发生水解产生氢离子,因而能量代谢最终会引起酸性物质的产生,并使胞外微环境中的pH降低.这种pH的波动可以通过相应光生电流的信号变化被LAPS传感器检测到^[47].另外LAPS还能检测 Na^+ , K^+ , Ca^{2+} 等离子以及多肽蛋白等生物大分子,是一个真正能达到多参数检测的传感器.目前所知,国内外关于类器官芯片与LAPS传感器结合的研究很少,笔者团队是其中之一.我们设计了将LAPS芯片集成在类器官培养腔内的原位检测芯片(图5)以及将类器官培养微环境中的溶液通过微流控导入到LAPS芯片上的复合系统.在

图3 (网络版彩色)3D阻抗传感器^[43]. (a) 3D阻抗传感器的构造; (b) 3D阻抗传感器的等效电路; (c) 八通道的3D阻抗传感系统; (d) 实时检测3D细胞和基质胶的细胞生长曲线结果

Figure 3 (Color online) 3D electric cell/matrigel-substrate impedance sensing (ECMIS). (a) Fabrication schematic of 3D impedance biosensor; (b) equivalent circuit of 3D cells/matrigel construct in the culture chamber; (c) images of 8-channel 3D impedance biosensor and images of 3D ECMIS detection system; (d) a group of representative cell growth curves of 3D-cultured cells and matrigel

图4 (网络版彩色)基于MEA传感器的3D心肌细胞监测^[45]

Figure 4 (Color online) Monitoring 3D cardiocytes based on MEA sensor^[45]

图5 (网络版彩色)3D多参数LAPS传感器. (a) 各种代谢产物通过芯片上不同的敏感膜进行原位检测; (b) 培养在PDMS腔体内的3D细胞; (c), (d) 3D多参数LAPS芯片斜视图和侧视图

Figure 5 (Color online) 3D multi-parameter light-addressable potentiometric sensor (LAPS). (a) *In situ* test of metabolites through different sensitive membrane on chip; (b) 3D cell culturing in PDMS chamber; (c), (d) oblique view and side view of 3D multi-parameter LAPS

微流控系统的帮助下, PDMS培养腔内的3D细胞或类器官可以长时间培养, 相应的物质检测也可以实时地进行. 通过对LAPS芯片分析类器官培养微环境中各项代谢产物的变化, 实现对类器官生理状态的监测.

4 人体仿生芯片展望

类器官仿生芯片能在体外近乎真实地模拟人体内

的生理和病理状态, 从而能预测药物或是其他刺激所产生的应对反应. 这在基础生命科学研究、临床疾病模拟和新药研发等领域具有广泛的应用价值. 类器官仿生芯片一个最重要的应用是药物筛选, 因此不同种类的癌症类器官芯片将在药物评价中发挥重大作用. 由于药物在人体内需要经历吸收、分布、代谢、排泄的一整套过程, 因此多种类器官芯片通过微流控技术

连接起来可以研究药物对不同器官的药效以及相应的副作用,这也就是人体芯片的全新概念(图6)。人体芯片的研究为药物研发、疾病认识、化学品和毒素检测等领域提供了一种更接近生理状态的体外模型,具有广泛的应用价值。由于人体器官仿生芯片高度模拟人体状态这一特点,在未来将很有可能替代动物实验,这大大减少了药物研制的成本和进行临床前人体实验的时间,同时能更加了解新药的毒性作用和人体对药物的代谢反应。

人体器官仿生芯片作为人类健康领域的高精尖技术,在疾病研究、个性化医疗、毒性预测和新药研发等各领域都起着非常重要的作用,它的发展前景吸引了各方面的关注,不久的将来会孕育出杰出的科学突破。伴随着该技术进一步的发展,未来利用人体器官芯片的组合连接有可能构建一种完整生命模拟系统,这将彻底改变我们了解自身的方式,为生命科学和医学等多个学科研究提供一种整体性和系统性的解决方案。

图6 (网络版彩色)多器官人体仿生芯片示意图^[48]

Figure 6 (Color online) Overview of multi-organ human bionic chip^[48]

参考文献

- 1 Qin J H, Zhang M, Yu H, et al. Human organs-on-a-chip (in Chinese). Bull Chin Acad Sci, 2017, 32: 1281–1289 [秦建华, 张敏, 于浩, 等. 人体器官芯片. 中国科学院院刊, 2017, 32: 1281–1289]
- 2 Sin A, Chin K C, Jamil M F, et al. The design and fabrication of three-chamber microscale cell culture analog devices with integrated dissolved oxygen sensors. Biotechnol Prog, 2004, 20: 338–345
- 3 Haycock J W. 3D cell culture: A review of current approaches and techniques. In: 3D Cell Culture. Berlin: Springer, 2011. 1–15
- 4 Lancaster M A, Knoblich J A. Organogenesis in a dish: Modeling development and disease using organoid technologies. Science, 2014, 345: 1247125
- 5 Sato T, Vries R G, Snippert H J, et al. Single Lgr5 stem cells build crypt-villus structures *in vitro* without a mesenchymal niche. Nature, 2009, 459: 262–265
- 6 Carmon K S, Gong X, Lin Q, et al. R-spondins function as ligands of the orphan receptors LGR4 and LGR5 to regulate Wnt/-catenin signaling. Proc Natl Acad Sci USA, 2011, 108: 11452–11457
- 7 de Lau W, Barker N, Low T Y, et al. Lgr5 homologues associate with wnt receptors and mediate r-spondin signalling. Nature, 2011, 476: 293–297
- 8 Yui S, Nakamura T, Sato T, et al. Functional engraftment of colon epithelium expanded *in vitro* from a single adult lgr5+ stem cell. Nat Med, 2012, 18: 618–623
- 9 Matano M, Date S, Shimokawa M, et al. Modeling colorectal cancer using crispr-cas9-mediated engineering of human intestinal organoids. Nat Med, 2015, 21: 256–262
- 10 Lindemans C A, Calafiore M, Mertelsmann A M, et al. Interleukin-22 promotes intestinal-stem-cell-mediated epithelial regeneration. Nature, 2015, 528: 560–564
- 11 Jung P, Sato T, Merlos-Suárez A, et al. Isolation and *in vitro* expansion of human colonic stem cells. Nat Med, 2011, 17: 1225–1227
- 12 Sato T, Stange D E, Ferrante M, et al. Long-term expansion of epithelial organoids from human colon, adenoma, adenocarcinoma, and Barrett's epithelium. Gastroenterology, 2011, 141: 1762–1772
- 13 Huch M, Gehart H, van Boxtel R, et al. Long-term culture of genome-stable bipotent stem cells from adult human liver. Cell, 2015, 160: 299–312
- 14 Boj S F, Hwang C I, Baker L A, et al. Organoid models of human and mouse ductal pancreatic cancer. Cell, 2015, 160: 324–338
- 15 Karthaus W R, Iaquinata P J, Drost J, et al. Identification of multipotent luminal progenitor cells in human prostate organoid cultures. Cell, 2014, 159: 163–175
- 16 Chua C W, Shibata M, Lei M, et al. Single luminal epithelial progenitors can generate prostate organoids in culture. Nat Cell Biol, 2014, 16: 951–961
- 17 Bartfeld S, Bayram T, van de Wetering M, et al. *In vitro* expansion of human gastric epithelial stem cells and their responses to bacterial infection. Gastroenterology, 2015, 148: 126–136
- 18 Kessler M, Hoffmann K, Brinkmann V, et al. The notch and wnt pathways regulate stemness and differentiation in human fallopian tube organoids.

- Nat Commun, 2015, 6: 8989
- 19 Ren W, Lewandowski B C, Watson J, et al. Single Lgr5- or Lgr6-expressing taste stem/progenitor cells generate taste bud cells *ex vivo*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2014, 111: 16401–16406
 - 20 Maimets M, Rocchi C, Bron R, et al. Long-term *in vitro* expansion of salivary gland stem cells driven by Wnt signals. *Stem Cell Rep*, 2016, 6: 150–162
 - 21 DeWard A D, Cramer J, Lagasse E. Cellular heterogeneity in the mouse esophagus implicates the presence of a nonquiescent epithelial stem cell population. *Cell Rep*, 2014, 9: 701–711
 - 22 Rock J R, Onaitis M W, Rawlins E L, et al. Basal cells as stem cells of the mouse trachea and human airway epithelium. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106: 12771–12775
 - 23 Turco M Y, Gardner L, Hughes J, et al. Long-term, hormone-responsive organoid cultures of human endometrium in a chemically defined medium. *Nat Cell Biol*, 2017, 19: 568–577
 - 24 Sachs N, de Ligt J, Kopper O, et al. A living biobank of breast cancer organoids captures disease heterogeneity. *Cell*, 2018, 172: 373–386
 - 25 Drost J, Clevers H. Organoids in cancer research. *Nat Rev Cancer*, 2018, 18: 407–418
 - 26 Ootani A, Li X, Sangiorgi E, et al. Sustained *in vitro* intestinal epithelial culture within a Wnt-dependent stem cell niche. *Nat Med*, 2009, 15: 701–706
 - 27 Huh D, Matthews B D, Mammoto A, et al. Reconstituting organ-level lung functions on a chip. *Science*, 2010, 328: 1662–1668
 - 28 Huh D, Fujioka H, Tung Y C, et al. Acoustically detectable cellular-level lung injury induced by fluid mechanical stresses in microfluidic airway systems. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104: 18886–18891
 - 29 Huh D, Leslie D C, Matthews B D, et al. A human disease model of drug toxicity-induced pulmonary edema in a lung-on-a-chip microdevice. *Sci Transl Med*, 2012, 4: 159ra147
 - 30 Benam K H, Novak R, Nawroth J, et al. Matched-comparative modeling of normal and diseased human airway responses using a microengineered breathing lung chip. *Cell Syst*, 2016, 3: 456–466
 - 31 Kang Y B A, Sodunke T R, Lamontagne J, et al. Liver sinusoid on a chip: Long-term layered co-culture of primary rat hepatocytes and endothelial cells in microfluidic platforms. *Biotechnol Bioeng*, 2015, 112: 2571–2582
 - 32 Li Z, Jiang L, Tao T, et al. Assessment of cadmium-induced nephrotoxicity using a kidney-on-a-chip device. *Toxicol Res*, 2017, 6: 372–380
 - 33 Wang L, Tao T, Su W, et al. A disease model of diabetic nephropathy in a glomerulus-on-a-chip microdevice. *Lab Chip*, 2017, 17: 1749–1760
 - 34 Zhu Y, Yin F, Wang H, et al. Placental barrier-on-a-chip: Modeling placental inflammatory responses to bacterial infection. *ACS Biomater Sci Eng*, 2018, 4: 3356–3363
 - 35 Au S H, Chamberlain M D, Mahesh S, et al. Hepatic organoids for microfluidic drug screening. *Lab Chip*, 2014, 14: 3290–3299
 - 36 Skardal A, Devarasetty M, Soker S, et al. *In situ* patterned micro 3D liver constructs for parallel toxicology testing in a fluidic device. *Biofabrication*, 2015, 7: 031001
 - 37 Wang Y, Wang H, Deng P, et al. *In situ* differentiation and generation of functional liver organoids from human iPSCs in a 3D perfusable chip system. *Lab Chip*, 2018, 18: 3606–3616
 - 38 Sachs N, Clevers H. Organoid cultures for the analysis of cancer phenotypes. *Current Opinion Genet Devel*, 2014, 24: 68–73
 - 39 Ruppen J, Wildhaber F D, Strub C, et al. Towards personalized medicine: Chemosensitivity assays of patient lung cancer cell spheroids in a perfused microfluidic platform. *Lab Chip*, 2015, 15: 3076–3085
 - 40 Yang Y, Yang X, Zou J, et al. Evaluation of photodynamic therapy efficiency using an *in vitro* three-dimensional microfluidic breast cancer tissue model. *Lab Chip*, 2015, 15: 735–744
 - 41 Wu Q, Wei X, Pan Y, et al. Bionic 3D spheroids biosensor chips for high-throughput and dynamic drug screening. *Biomed Microdevices*, 2018, 20: 82
 - 42 Eichler M, Jahnke H G, Krinke D, et al. A novel 96-well multielectrode array based impedimetric monitoring platform for comparative drug efficacy analysis on 2D and 3D brain tumor cultures. *Biosens Bioelectron*, 2015, 67: 582–589
 - 43 Pan Y, Hu N, Wei X, et al. 3D cell-based biosensor for cell viability and drug assessment by 3D electric cell/matrigel-substrate impedance sensing. *Biosens Bioelectron*, 2018, 18: 30735–30738
 - 44 Frega M, Tedesco M, Massobrio P, et al. Network dynamics of 3D engineered neuronal cultures: A new experimental model for *in-vitro* electrophysiology. *Sci Rep*, 2014, 4: 5489
 - 45 Wei X W, Gao Q, Su K Q, et al. Three-dimensional cardiomyocyte-based biosensor with tissue engineering scaffold (in Chinese). *J Zhejiang Univ (Eng)*, 2018, 52: 1415–1422 [魏鑫伟, 高庆, 苏凯麒, 等. 结合组织工程支架的三维心肌细胞传感器. *浙江大学学报(工学版)*, 2018, 52: 1415–1422]
 - 46 Hu N, Ha D, Wu C, et al. A laps array with low cross-talk for non-invasive measurement of cellular metabolism. *Senss Actuators A-Phys*, 2012, 187: 50–56
 - 47 Hafeman D, Parce J, McConnell H. Light-addressable potentiometric sensor for biochemical systems. *Science*, 1988, 240: 1182–1185
 - 48 Huh D, Hamilton G A, Ingber D E. From 3D cell culture to organs-on-chips. *Trends Cell Biol*, 2011, 21: 745–754

Summary for “类器官芯片在生物医学中的研究进展”

Research progress of organoids-on-chips in biomedical application

Qian Wu^{1,2}, Yuxiang Pan¹, Hao Wan¹, Ning Hu³ & Ping Wang^{1,2*}¹ Biosensor National Special Laboratory, Key Laboratory for Biomedical Engineering of Ministry of Education, College of Biomedical Engineering & Instrument Science, Zhejiang University, Hangzhou 310027, China;² State Key Laboratory for Sensor Technology, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200050, China;³ Biomaterials Innovation Research Center, Center for Biomedical Engineering, Harvard Medical School, Massachusetts 02139, USA* Corresponding author, E-mail: cnpwang@zju.edu.cn

Drug screening is traditionally based on the pharmacodynamic models from 2D cell culture or animal experiments. However, these models suffer from poor drug efficacy prediction due to their difference from human *in vivo* cell microenvironments. In recent years, advances in biotechnology and tissue engineering have enabled rapid growth of *in vitro* organoid culturing. These organoids cultured in matrigel can mimic human *in vivo* cell microenvironment and physiology more accurately than traditional 2D cell culture and animal models. Among them, tumor organoids, especially patient-derived tumour organoids, can be applied as effective cancer models for drug screening and personalized medicine.

By integrating organoid culturing and microfluidics, organoid-on-a-chip platform has been developed to simulate the structure and function of human tissues or organs. In 2010, Ingber et al. reported a biomimetic microfluidic platform called lung-on-a-chip. Microscale engineering technologies were firstly utilized to create biomimetic microchips. Henceforth, increasing kinds of organ-on-a-chips were reported all over the world to mimic different organs, such as liver, kidney and brain. 2D planar cells were cultured in PDMS chambers in majority organ-on-a-chips. More and more studies focused on 3D cells or organoids instead recently due to their better biomimetic capability for drug screening and disease models. In 2018, Qin et al. reported a liver organoid from human iPSCs in a 3D perfusable chip system, which is the first study that uses human organoid in a microfluidic chip and executed drug testing successfully. The established liver organoid-on-a-chip system may provide a promising platform for engineering stem cell-based organoids with applications in regenerative medicine, disease modeling and drug testing.

Conventionally, drug efficacy evaluation in organoid-on-a-chip was performed by cell staining. However, this approach only presents static results of live/dead cells, but cannot monitor the cells dynamically for long-term recording. Sensor integration with organoid-on-a-chips paves a new way for dynamic recording. Currently, Wang et al. developed a 3D electric cell/matrigel-substrate impedance sensing (3D-ECMIS) platform for real-time and non-invasive monitoring of 3D cell viability and drug susceptibility. This platform integrated impedance sensors to monitor the impedance changes during 3D cell culturing. Additionally, Wang et al. reported the 3D cardiomyocytes detection by combining microelectrode arrays (MEAs). Heart cells of neonatal rat were cultured on a tissue engineering scaffold, which was fabricated by 3D printing and electro-spinning. The experimental results demonstrated that extracellular field potential (spike amplitude and firing rate) of 3D cardiomyocytes can be recorded in real time. Moreover, non-invasive measurement of cellular metabolism is important to study the metabolism mechanism and drug efficacy. Thus, light-addressable potentiometric sensor (LAPS) was integrated with organoid-on-a-chip for chemical imaging of ions (H^+ , Na^+ , K^+ , Ca^{2+}) induced by cellular metabolism, which enables accurate detection of different chemical parameters in organoid-on-a-chip.

Multiple organoid chip linked by microfluidics, called human-on-a-chip is a newly emerging and frontier technology to mimic the interaction of multiple human organs in recent years. It can recapitulate the physiologically relevant structures and functions of the organs, as well as the interaction between multiple organs as *in vivo*, thereby offering alternative models for predicting human responses to various drugs and environmental stimulus. Organoid-on-a-chip demonstrates outstanding potential in drug screening, disease modeling and personalized precision medicine.

organoids-on-a-chip, microfluidic, biomedical, biosensor, drug developmentdoi: [10.1360/N972018-00860](https://doi.org/10.1360/N972018-00860)