

## 器官芯片——更具前景的体外模型

杨振丽, 夏雨佳, 刘玉琴\*

中国医学科学院基础医学研究所 北京协和医学院基础学院 病理学系, 北京 100005

**摘要:** 传统的体外模型具有不可避免的局限性, 与人体试验相比, 在评估药物疗效和不良反应方面存在显著差异。器官芯片技术在生理环境和功能芯片上模拟人体器官, 具有高保真的生理或病理生理功能, 为药物开发提供了巨大的创新前景。本文主要从体内各系统角度介绍器官芯片的研究进展和应用, 同时提出目前器官芯片发展过程中存在的局限性和未来的发展方向。

**关键词:** 器官芯片; 类器官; 疾病模型

中图分类号: R318.19 文献标志码: A

DOI: 10.16352/j.issn.1001-6325.2024.09.1202

### Organ-on-a-chip: a more promising *in vitro* model

YANG Zhenli, XIA Yujia, LIU Yuqin\*

Department of Pathology, Institute of Basic Medical Sciences CAMS, School of Basic Medicine PUMC, Beijing 100005, China

**Abstract:** Traditional *in vitro* models have inevitable limitations and there are significant differences in assessing drug efficacy and side effects as compared to human trials. Organ-on-a-chip technology simulates human organs in a physiological environment and functional chip with a high fidelity physiological or pathophysiological level, offering great innovative prospects for drug development. This paper mainly introduces the research progress and application of organ chip from the perspective of various systems *in vivo*. At the same time, the limitations of the current development process of organ chip and the future development direction are proposed.

**Key words:** organ-on-a-chip; organoid; disease model

#### 1 类器官与器官芯片

能够准确反映人体病理生理特点的体外模型的建立是生命科学领域多年来追求的目标。从传统的细胞模型、动物模型逐步发展, 类器官和器官芯片模型近年来获得了广泛的关注。(注: 各体外模型的优缺点比较见本专题中的“肿瘤类器官临床前转化研究及应用”一文)

类器官是由人多能干细胞或成体干细胞衍生出的三维结构, 可以再现人体器官的结构、功能和组织特异性, 在个性化医疗和临床前药物测试中展现出巨大的应用前景。典型的类器官培养模式包括浸没培养法、气-液交互培养法以及共培养。器官芯片 (organ-on-a-chip, OOC) 是一种通过微芯片制造方法制作的微流控细胞培养设备, 该设备包含连续灌注腔室, 具有多细胞层结构、组织界面、物理化学微

收稿日期: 2024-06-26 修回日期: 2024-07-10

基金项目: 中国医学科学院医学与健康科技创新工程-重大协同创新项目 (2021-I2M-1-053)

\* 通信作者 (corresponding author): liuyuqin@pumc.edu.cn

环境以及类人体血管的循环<sup>[1]</sup>。也可认为是可模拟和重构人体器官生理功能的细胞培养微工程设备。微流控器官芯片的工作原理在于:对应体内的生理状态,模拟流体剪切力、动态机械应力、浓度梯度等微环境,从而模拟较为复杂的体内环境,包括细胞、组织与血液之间的相互作用,可观察不同刺激下较高维度的病理生理反应,并检测更为可信的反应数据。

为构建具有完整器官功能的芯片,还需对已有芯片进行改进和优化。在构建单器官芯片的基础上向着多器官芯片联合的方向发展。目前已有报道的单器官芯片包括肺芯片、肾芯片、脑芯片、心芯片、肠芯片等,常用于模拟对应器官的功能和构建疾病模型。已有报道的多器官芯片包括肠-肾芯片、肝-肠芯片等,常用于模拟药物在人体中的吸收、消化、代谢和消除的过程,以确定药物进入体内对相应系统所产生的影响。

## 2 器官芯片及其应用

### 2.1 呼吸系统器官芯片

肺部气体交换主要依靠肺泡的扩张和收缩以增加气体交换的面积,肺泡作为肺部气体交换的主要部位,也是肺的功能单位。Ingber 团队构建了一种基于微流控芯片的多功能微装置,它再现了人体肺泡-毛细血管界面气-血屏障的核心结构,实现了其关键功能,具备作为人体肺基本功能单元的特征<sup>[2]</sup>。其工作原理如图 1 和图 2 所示,核心部分包括上下两个紧密相连的微通道,二者由聚二甲基氧烷(PDMS)制成的多孔柔性薄膜(10 μm)隔开,以纤维连接蛋白或胶原蛋白包被薄膜表面后,在其上下两面分别培养人肺泡上皮细胞和人微血管内皮细胞,待细胞生长汇合后,分别将空气导入上室,培养基保留在下室,形成气-液界面。当侧室处于真空状态时,PDMS 薄膜会弹性变形,带动膜上的细胞伸展,当侧室内气压恢复时,PDMS 膜的弹性使其上的贴壁细胞恢复到原来的状态,模拟了呼吸运动引起的肺泡-毛细血管界面的动态力学改变。

继肺的单器官芯片成功研发之后,肺器官芯片与其他器官芯片共同联动作用的多器官芯片平台及更为复杂的病理模型也有了进一步发展。较为典型的病理模型包括人肺水肿芯片模型、人非小细胞肺

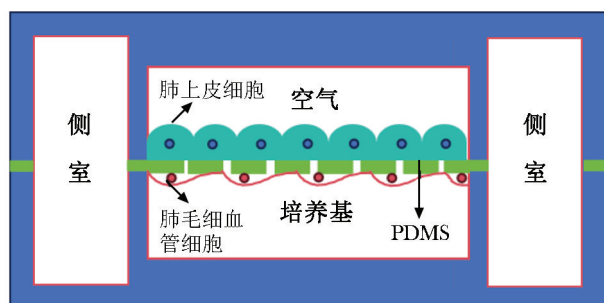


图 1 肺芯片结构示意图:使用聚二甲基氧烷(PDMS)薄膜将肺上皮细胞和肺毛细血管细胞隔开

Fig 1 Schematic diagram of lung chip structure: A polydimethylsiloxane (PDMS) film was used to separate the pulmonary epithelial cells from the pulmonary capillary cells

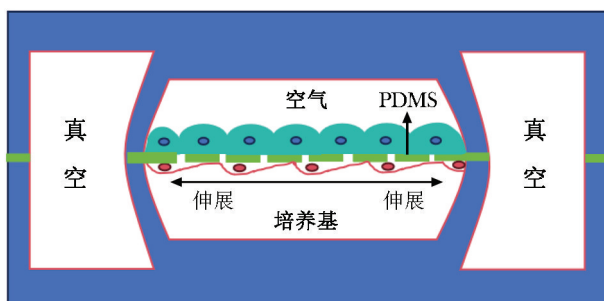


图 2 肺芯片结构示意图:在侧室中通入真空模拟生理呼吸模式中肺的伸缩状态

Fig 2 Schematic diagram of lung chip structure: A vacuum was inserted into the lateral chamber to simulate the expansion and contraction of the lung in physiological breathing mode

癌模型、研究烟雾、粉尘等污染因素的肺器官芯片模型等。在加入免疫细胞的情况下模拟各种病理状况并确定药物疗效和毒性。以 COVID-19 为例,利用肺气道 OOC 系统研发的药物,已经 FDA 批准,用于治疗 SARS-CoV-2<sup>[3]</sup>,通过该平台还发现阿莫地喹是 SARS-CoV-2<sup>[4]</sup>的潜在抑制剂。将肺器官芯片与其他器官芯片联动作用,打造更复杂的器官芯片平台,如肝-肺-心芯片、肝-肺-肠芯片,可以在检测某药物对肺部疾病的作用的同时,确定其对其他器官是否存在难以代谢的毒性。

### 2.2 循环系统器官芯片

心力衰竭是全球人口主要死亡原因。心肌细胞不可再生,药物的心脏毒性是药物评价中极为重要的内容。从疾病模型建立以及药物心脏毒性预测的

角度出发,对心脏模型的开发要求更高,因此心脏芯片作为集可控的生理、生化、机械力等因素于一体的体外模型,受到广泛关注。目前所构建的心脏芯片主要由4个子系统组成:微流控结构、细胞组织和相关基质、环境控制(例如氧气梯度、药物输送、机械驱动/刺激)和分析组件(例如在线生化传感器、电极)。其中细胞主要来源于成人供体细胞衍生的诱导多功能干细胞所产生的心肌细胞。基于该技术已经开发了多种心脏 OOC 平台,包括多种细胞类型的共培养,如心肌细胞、内皮细胞和心脏成纤维细胞,主要专注于心脏的仿生和功能方面<sup>[5]</sup>,同时心脏芯片也用于抗癌药物的心脏毒性的评估<sup>[6]</sup>。在此基础上,心脏芯片与其他器官芯片的联合使用也在不断探索中,如设计肝-心芯片用于评估药物使用过程中对肝脏和心脏功能的影响<sup>[7]</sup>。

在建立多器官芯片平台时,首先需要解决的就是功能性血管的建立。目前关于血管芯片的构建已有较多研究,研究方向主要集中在芯片的血管屏障功能、血管生成和血管形态、调节血液流动、止血和血栓形成这3个方面。动脉粥样硬化血管模型的建立重现了疾病的病理生理过程,并展现出该模型在药物筛选中的潜力<sup>[8]</sup>。将微血管网络系统与类器官共培养可增强类器官的生长、成熟和功能表达,部分解决类器官培养过程中缺乏血管化所引起的问题<sup>[9]</sup>,Di Cio 等将微血管化心脏球体嵌入微流控芯片中,成功实现了可维持跳动能力的血管化心脏球体芯片,并用于心脏功能障碍相关治疗药物毒性的评估<sup>[10]</sup>。

### 2.3 消化系统器官芯片

肝脏具有复杂的微结构,具有多种功能,在各种物质的合成和代谢中起着核心作用<sup>[11]</sup>。药物诱导肝损伤是临床前和临床试验中候选药物失败的最常见原因,也是药物批准后退出现场的常见原因。肝器官芯片所使用的原料主要是原代人肝细胞或细胞系,这就不可避免地会产生随着培养时间的增加而功能表达下降的问题,这一问题可以通过与星形细胞、成纤维细胞、内皮细胞共培养以及血流灌注等方式一定程度上进行弥补。肝脏类器官技术近年来发展加快,Ramamurthy 团队成功培养出可以表达细胞色素 P450 并分泌血清白蛋白的、具有部分正常肝脏功能的类器官<sup>[12]</sup>。然而这种类器官培养与器官

芯片技术的结合,重复性较差。Huh J 团队将利用 3D 打印技术制备的肝器官球体接种于芯片上,该器官芯片的功能稳定后,进行持续监测乙酰氨基酚对肝脏类器官的影响<sup>[13]</sup>。向芯片大平台联合的方向探索的同时,逐渐开发了更精细的亚器官组织芯片,以满足微观层面研究的需要。Maji 等构建出肝血窦芯片,为肝脏生理微环境和肝内细胞-细胞之间相互作用提供体外模型,并通过该模型评估药物浓度的安全治疗范围<sup>[14]</sup>。由于肝脏对药物毒性的代谢作用在体内是独一无二的,肝脏芯片与其他器官芯片结合成为目前多器官芯片研究中最集中的模式。已建成并用于药物毒性研究的多器官芯片主要有:肝-肺,肝-心,肝-肠,肝-肾-肠,肝肾-骨髓,肝-肺-心,肝-心-神经元-肌肉,肝-肾-肠-脑,肝-心-肺-血管-睾丸-脑等。

肠道是人体营养物质消化、吸收和代谢的主要器官之一,也是宿主-共生菌群相互作用和黏膜免疫的主要部位。肠器官芯片通过结合微流控系统和模拟力的作用,更好地呈现了肠道解剖和生理结构,在此基础上构建了克罗恩病、溃疡性结肠炎等肠道疾病模型,并用肠器官芯片建立了系列肠道感染模型,用于研究病原体的致病过程及机制。Lee 等建立了一种新的肠道微生物组器官芯片,具有高分辨率的成像能力,能够可视化微生物生长,对它们的生物学行为、微生物群落内的相互作用、不同群落对肠道的集体影响进行了更加深入的研究<sup>[15]</sup>。在过敏反应预测方面,肠道-免疫-皮肤轴器官芯片的应用加深了对过敏机制的理解,实现了对食物致敏性可靠的预测<sup>[16]</sup>。此外肠类器官为药物毒性和有效性的测试提供了一个新的平台,近年来为了测试药物对靶器官的毒性和疗效,逐步开发多器官芯片联合平台,都包含肠类器官,用于研究器官间串扰和识别潜在的不良反应。

### 2.4 神经系统——脑/血脑屏障芯片

人脑结构和功能的复杂性,尤其是血脑屏障的存在为神经系统药物的开发带来了独特的挑战,血脑屏障选择性地控制药物进入中枢神经系统,使得该类药物的真实药效预测难度增加。因此脑芯片的研发重点在于模拟血脑屏障功能,通过适当的细胞三维空间排列、细胞间通信和器官特异性的机械和生化梯度来重建具有功能的人类血脑屏障,用于测

试治疗神经相关疾病的药物是否可以通过血脑屏障并在特定靶点发挥作用。脑的亚器官芯片模型——神经血管类器官的开发,为建立更完善的血脑屏障模型提供了支持,这些模型采用跨内皮电阻(TEER)作为功能读数,并作为测量所构建的血脑屏障紧密性的金标准<sup>[17]</sup>。

由于对人类脑组织的获取限制,以及分离过程中难以避免的机械性破坏,往往导致细胞产量和纯度较差,获得患者的血脑屏障原代培养细胞难度较大,因此诱导多能干细胞(induced pluripotent stem cells, iPSCs)可作为患者细胞的来源。关于 iPSCs 来源的细胞在构建血脑屏障器官芯片方面的可行性,已有研究证明其可以在器官芯片上分化为神经祖细胞、神经元和星形胶质细胞等,初步具备生理状态<sup>[18]</sup>。

血脑屏障器官芯片模型已用于各种神经病理学建模,有助于更好地理解疾病的发病机制和进展,确定潜在的治疗靶点,或评估新候选药物的治疗潜力。目前已建立的疾病模型包括阿尔茨海默病<sup>[19]</sup>、帕金森病<sup>[20]</sup>、神经炎性反应模型<sup>[21]</sup>等。Maoz 团队将各种脑细胞整合到一个器官芯片中,模拟人类神经血管单元,分析单个细胞类型在神经血管单元中所发挥的功能。这种综合性的方法对于理解和解决阿尔茨海默病等神经系统疾病有借鉴意义<sup>[22]</sup>。

## 2.5 泌尿系统——肾芯片

肾脏负责人体代谢、排泄和重吸收,是药物毒性的重要靶器官。药物诱导性肾损伤是检测药物毒性并确定药物剂量的重要因素。肾近曲小管是受药物毒性影响最强烈的部位,因此近端小管 OOC 模型是预测药物毒性的关键部分。Nieskens 等的研究中使用近端小管 OOC 平台成功预测了 SPC5001 的肾毒性,值得关注的是该药物的肾毒性在小鼠和非人灵长类动物的临床前动物试验中并没有发现,而是到 I 期临床试验才确定<sup>[23]</sup>。这提醒我们部分器官芯片对于药物毒性测试的准确性要优于临床前的其他模型。基于此,研究人员可以将之前未通过临床前试验的一些药物重新进行毒性检测,或许会有新的发现。此外,作为身体的解毒器官,肝脏和肾脏具有紧密联系,肝-肾器官芯片的建立及药物代谢数据表明,多器官协同作用平台比单一培养的器官芯片毒性反应更敏感,在替代动物模型进行有效药物毒性

筛选方面具有较高的潜力<sup>[24]</sup>。

## 2.6 其他

随着器官芯片技术的不断发展与成熟,人们对器官芯片的类型也提出了更高的要求。皮肤芯片、骨芯片、肌肉芯片、视网膜芯片以及肿瘤芯片等相继出现,为打造更接近人体生理病理状态的器官芯片平台及多器官芯片联合平台奠定基础。在此基础上,将肿瘤芯片与其他器官芯片联合,更加系统地研究肿瘤通过血管、淋巴管进行侵袭、转移等复杂的病理过程及生理反应。随着单个器官芯片的成熟,当其具有完整的功能特征(即,当它们显示所需的模拟器官的关键特征)时,就可以将其组合起来创建多器官芯片联合平台,因此亦可称为人体芯片。通过微流体模拟血管灌注的体内作用,将不同的单器官芯片相互连接起来,可以重现器官之间复杂和动态的串扰,呈现了一种更接近正常生理状态的药物传递、分布和吸收的模式。

## 3 器官芯片的局限性

器官芯片的研究中仍有不少挑战亟待克服。首先需要解决的就是器官芯片使用中通量较低的问题。临床前药物研究的高通量平台对于降低新药研发成本至关重要,而大多数器官芯片平台的通量相对较低,这阻碍了成熟器官芯片在药物筛选中的广泛应用。其次,缺乏统一的评价标准,同种器官芯片之间的横向比较难度较大,缺失与芯片配套的测量方案,也是器官芯片大规模应用中的难题。另外,人体是多因素动态组合的整体,而目前器官芯片平台所展示的大多是孤立的而非整体的反应。虽然器官芯片一定程度上做到了精准模拟某个器官的特定功能,但仅停留在简单拼接的层面,仍有很多重要因素的缺失,因此通过单个器官芯片乃至多器官芯片组合的平台也难以得到与人体病理生理反应完全一致的结果。未来的器官芯片的研究应逐步引入免疫和内分泌系统以及关注神经调控的作用。器官芯片技术还处于探索阶段,其制作、培养、维护、监测的过程中所需费用较大,整体造价过高,这一情况限制了其在药效评价和个体治疗中的广泛应用。

## 4 展望

近年来,人工智能(AI)在新药研发中的应用缩

短了新药的早期开发,如靶标的发现和验证、先导化合物和候选药物的结构与合成路线设计、药代动力学的模拟等<sup>[26]</sup>。器官芯片可以显著提升临床测试之前的药物筛选试验效率,快速产生大量的测试数据。器官芯片与 AI 药物研究具备极佳的互补性。AI 与器官芯片融合,一方面将 AI 设计的药物用器官芯片验证,解决现有试验模型通量小、周期长、花费高的问题,另一方面器官芯片产生的大量数据可用于 AI 训练,从而提高 AI 预测准确性。此外,随着技术的不断成熟,免疫、内分泌、神经调控等因素的引入将促进其产生联动的生理反应,将可以得到更

接近病理生理状态的体外模型。虽然器官芯片还处于初级阶段,但仍有两种思路可以预见,即单人多器官芯片和多人单器官芯片的打造。在个体化治疗不断发展的情况下,打造患者个体多器官芯片平台可以提供更符合其个人临床反应的用药策略,最大程度降低药物毒性。对于整个人群而言,多人单器官芯片为群体特性的探索提供平台,从而促进药物研发和使用过程中的进一步细化。虽然器官芯片的进一步发展仍面临着学术界和工业界的双重挑战,不可否认,器官芯片将极大地改善药物开发、疾病建模和个性化医疗的现状。

## 参考文献:

- [1] Huh D, Kim HJ, Fraser JP, *et al.* Microfabrication of human organs-on-chips [J]. *Nat Protoc*, 2013, 8: 2135-2157.
- [2] Huh D, Matthews BD, Mammoto A, *et al.* Reconstituting organ-level lung functions on a chip[J]. *Science*, 2010, 328:1662-1668.
- [3] Tang H, Abouleila Y, Si L, *et al.* Human organs-on-chips for virology [J]. *Trends Microbiol*, 2020, 28: 934-946.
- [4] Si L, Bai H, Rodas M, *et al.* A human-airway-on-a-chip for the rapid identification of candidate antiviral therapeutics and prophylactics [J]. *Nat Biomed Eng*, 2021, 5:815-829.
- [5] Paloschi V, Sabater-Lleal M, Middelkamp H, *et al.* Organ-on-a-chip technology: a novel approach to investigate cardiovascular diseases [J]. *Cardiovasc Res*, 2021, 117:2742-2754.
- [6] Rhoden A, Friedrich FW, Brandt T, *et al.* Sulforaphane exposure impairs contractility and mitochondrial function in three-dimensional engineered heart tissue [J]. *Redox Biol*, 2021, 41: 101951. doi: 10.1016/j.redox.2021.101951.
- [7] Lee-Montiel FT, Laemmle A, Charwat V, *et al.* Integrated isogenic human induced pluripotent stem cell-based liver and heart microphysiological systems predict unsafe drug-drug interaction [J]. *Front Pharmacol*, 2021, 12:667010. doi: 10.3389/fphar.2021.667010.
- [8] Su C, Menon NV, Xu X, *et al.* A novel human arterial wall-on-a-chip to study endothelial inflammation and vascular smooth muscle cell migration in early atherosclerosis [J]. *Lab Chip*, 2021, 21:2359-2371.
- [9] Quintard C, Tubbs E, Jonsson G, *et al.* A microfluidic platform integrating functional vascularized organoids-on-chip [J]. *Nat Commun*, 2024, 15: 1452. doi: 10.1038/s41467-024-45710-4.
- [10] Di Cio S, Marhuenda E, Haddrick M, *et al.* Vascularised cardiac spheroids-on-a-chip for testing the toxicity of therapeutics [J]. *Sci Rep*, 2024, 14: 3370. doi: 10.1038/s41598-024-53678-w.
- [11] Li Z, Hui J, Yang P, *et al.* Microfluidic organ-on-a-chip system for disease modeling and drug development [J]. *Biosensors (Basel)*, 2022, 12: 370. doi: 10.3390/bios12060370.
- [12] Ramamurthy RM, Atala A, Porada CD, *et al.* Organoids and microphysiological systems: promising models for accelerating AAV gene therapy studies [J]. *Front Immunol*, 2022, 13:1011143. doi: 10.3389/fimmu.2022.1011143.
- [13] Huh J, Parra JPRL, Copus JS, *et al.* 3D bioprinted liver-on-a-chip for drug cytotoxicity screening [J]. *Tissue Eng Part A*, 2024, 30. doi: 10.1089/ten.TEA.2023.0212.
- [14] Maji S, Lee M, Lee J, *et al.* Development of lumen-

- based perfusable 3D liver *in vitro* model using single-step bioprinting with composite bioinks[J]. *Mater Today Bio*, 2023, 21: 100723. doi: 10.1016/j.mtbio.2023.100723.
- [15] Lee J, Menon N, Lim CT. Dissecting gut-microbial community interactions using a gut microbiome-on-a-chip[J]. *Adv Sci (Weinh)*, 2024, 11: e2302113. doi: 10.1002/advs.202302113.
- [16] Janssen R, de Kleer JWM, Heming B, *et al.* Food allergen sensitization on a chip: the gut-immune-skin axis [J]. *Trends Biotechnol*, 2024, 42: 119-134.
- [17] Nguyen HT, Rissanen SL, Peltokangas M, *et al.* Highly scalable and standardized organ-on-chip platform with TEER for biological barrier modeling[J]. *Tissue Barriers*, 2024, 12: 2315702. doi: 10.1080/21688370.2024.2315702.
- [18] Liu L, Koo Y, Russell T, *et al.* A three-dimensional brain-on-a-chip using human iPSC-derived GABAergic neurons and astrocytes [J]. *Methods Mol Biol*, 2022, 2492: 117-128.
- [19] Palma-Florez S, López-Canosa A, Moralez-Zavala F, *et al.* BBB-on-a-chip with integrated micro-TEER for permeability evaluation of multi-functionalized gold nanorods against Alzheimer's disease [J]. *J Nanobiotechnology*, 2023, 21: 115. doi: 10.1186/s12951-023-01798-2.
- [20] Padiaditakis I, Kodella KR, Manatakis DV, *et al.* Modeling alpha-synuclein pathology in a human brain-chip to assess blood-brain barrier disruption [J]. *Nat Commun*, 2021, 12: 5907. doi: 10.1038/s41467-021-26066-5.
- [21] Nair AL, Groenendijk L, Overvest R, *et al.* Human BBB-on-a-chip reveals barrier disruption, endothelial inflammation, and T cell migration under neuroinflammatory conditions [J]. *Front Mol Neurosci*, 2023, 16: 1250123. doi: 10.3389/fnmol.2023.1250123.
- [22] Maoz BM, Herland A, FitzGerald EA, *et al.* A linked organ-on-chip model of the human neurovascular unit reveals the metabolic coupling of endothelial and neuronal cells [J]. *Nat Biotechnol*, 2018, 36: 865-874.
- [23] Huang Q, Yang T, Song Y, *et al.* A three-dimensional (3D) liver-kidney on a chip with a biomimicking circulating system for drug safety evaluation [J]. *Lab Chip*, 2024, 24: 1715-1726.
- [24] Elci BS, Nikolaev M, Rezakhani S, *et al.* Bioengineered tubular biliary organoids [J]. *Adv Healthc Mater*, 2024, 13: e2302912. doi: 10.1002/adhm.202302912.
- [25] Lu M, Yin J, Zhu Q, *et al.* Artificial intelligence in pharmaceutical sciences [J]. *Engineering*, 2023, 27: 37-69.