

文章编号: 1001-6325(2024)09-1219-04

特邀专题

## 胃癌类器官在基础研究与临床应用中的进展

刘保清, 黄容, 卢艳, 李凯, 张宁, 刘长征, 宋伟\*

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 重大疾病共性机制研究全国重点实验室,  
北京 100005

**摘要:** 胃癌在全球癌症发病率和死亡率中均位居第5, 具有高度的侵袭性和异质性, 但由于缺乏表征胃癌发生进展特性的研究模型, 胃癌的研究和治疗比较局限。胃癌类器官是一种在体外培育而成的多细胞三维结构, 能够模拟原发胃癌的结构和功能, 在建立胃癌研究模型、模拟体内肿瘤微环境、药物高通量筛选、发现治疗新靶点、预测临床治疗反应、指导个体化治疗等方面拥有巨大的应用潜力与发展前景。本文对胃癌类器官在基础研究与临床应用中的进展进行综述, 以期推动临床前基础研究的进展, 为胃癌的临床治疗提供支持。

**关键词:** 胃癌; 临床治疗; 类器官; 肿瘤微环境

中图分类号: R735.2 文献标志码: A

DOI: 10.16352/j.issn.1001-6325.2024.09.1219

## Progress of gastric cancer organoids in basic research and clinical application

LIU Baoqing, HUANG Rong, LU Yan, LI Kai, ZHANG Ning, LIU Changzheng, SONG Wei\*

State Key Laboratory of Common Mechanism Research for Major Diseases, Institute of Basic Medical Sciences CAMS,  
School of Basic Medicine PUMC, Beijing 100005, China

**Abstract:** Gastric cancer ranks fifth in global cancer mortality, which is highly aggressive and heterogeneous. However, the research and treatment of gastric cancer is hindered by short of research models that may characterize the developmental properties of gastric cancer. Gastric cancer organoid is a multicellular three-dimensional structure developed *in vitro*, which can mimic the structure and function of native gastric cancer. Gastric cancer organoids have great application potential and development prospects in establishing gastric cancer research models, mimicking the tumor microenvironment, high-throughput screening of drugs, discovering new therapeutic targets, predicting clinical therapeutic responses, and guiding individualized treatment. In this paper, the progress of gastric cancer organoids in basic research and clinical application is reviewed aiming for promoting the progress of preclinical research and supporting the clinical treatment of gastric cancer.

**Key words:** gastric cancer; clinical treatment; organoid; tumor microenvironment

胃癌 (gastric cancer, GC) 是一种起源于胃黏膜上皮细胞的恶性肿瘤, 具有高度的侵袭性和异质性, 在全球癌症发病率和死亡率中均位居第5<sup>[1]</sup>, 最新数据指出中国胃癌新发病例数达 35.87 万、新死亡例数达 26.04 万<sup>[2]</sup>。胃癌的发生与遗传因素、生活

方式、幽门螺旋杆菌 (*Helicobacter pylori*, Hp) 感染等相关<sup>[3]</sup>。早期胃癌的主要治疗方法是内镜切除, 非早期可手术的胃癌采用手术治疗, 晚期胃癌采用分期化疗<sup>[4]</sup>。由于早期诊断率低, 大多数胃癌患者就诊时病情已进展至晚期, 开发有效的胃癌治疗方法

收稿日期: 2024-06-26 修回日期: 2024-07-11

基金项目: 中国医学科学院医学与健康科技创新工程 (2021-I2M-1-066)

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

迫在眉睫。当前,大多数胃癌的临床前研究依赖于细胞系二维培养和动物模型,但两者都无法模拟原发的人类癌症,缺乏表征胃癌发生及进展特性的研究模型,使得胃癌的治疗仍面临重大挑战。

2009年,Hans Clevers等人使用来自小鼠肠道的成体干细胞培育出首个肠道类器官<sup>[5]</sup>,成为类器官研究时代的里程碑。类器官(organoids)是一类由成体干细胞、多能干细胞和肿瘤组织细胞等在体外三维(three-dimensional,3D)培养条件下形成的多种细胞类型的复合物<sup>[6]</sup>。类器官拥有与原代器官相似的表型特征、多样的细胞类型和更加稳定的基因表达,在组织胚胎与遗传发育、基础与临床转化、高通量筛选和药物开发、个体化医疗、再生医学与基因治疗等方面提供了新的模型与方法<sup>[7]</sup>。

本文简述胃癌类器官(gastric cancer organoids,GCO)的构建方法,总结GCO在肿瘤微环境模拟、胃癌发病机制研究、新的治疗靶点开发、高通量药物筛选、临床治疗反应预测、个体化治疗指导等方面的应用,以期深入探索癌症的发病机制,推动肿瘤防治药物的研发,并为临床疾病治疗提供参考和指导。

## 1 胃癌类器官的构建与培养

目前,类器官的获得方法主要有以下两种<sup>[8]</sup>:(1)诱导多能干细胞(induced pluripotent stem cell,iPSC),这种方法常用于发育生物学研究和毒性测试等;(2)患者来源的类器官(patient-derived organoids,PDO),这是肿瘤研究中常用的模型。GCO的构建基本步骤如下:(1)通过手术、活检等获得取胃癌细胞;(2)建立3D培养环境,使用基质胶支撑细胞,供应营养和生长因子;(3)鉴定类器官,通过匹配原始取材组织或者血液样本进行基因组鉴定,或者通过苏木精-伊红染色、免疫组织化学染色、免疫荧光等方法对类器官进行形态学及组织病理学评估鉴定。

## 2 胃癌类器官在临床治疗中的应用

### 2.1 模拟体内肿瘤微环境

肿瘤微环境(tumor microenvironment,TME)是由肿瘤细胞、基质细胞、免疫细胞及其分泌因子,以及非细胞组分构成的复杂生态系统,TME对肿瘤的启动、发展和转移具有关键调控作用。相较于传统的细胞系,GCO具备胃癌的疾病遗传特征和临床治疗反应

能力,在细胞多样性、模拟胃癌发病过程等方面具有明显优势。2014年,McCracken等利用人类多能干细胞(pluripotent stem cell,PSC)首次构建出完全来源于体外的人胃类器官(gastric organoids,GO),并使用该模型研究识别调节人类胃发育和生理学信号的传导机制、模拟胃上皮对Hp感染的病理生理反应<sup>[9]</sup>,这项研究为胃癌早期阶段建模和药物开发提供新平台。胃癌患者在手术后面临腹膜转移的风险,Huang等人通过单细胞转录组测序建立患者腹水单细胞图谱,并运用类器官模型验证自噬干预的潜在效果<sup>[10]</sup>,这一发现不仅为理解胃癌腹膜转移的进展和耐药提供了见解,也为通过检测腹水而非传统的外周血或活检来监测肿瘤状态指明了新方向。

GCO与肿瘤微环境中的其他细胞共同培养能够更准确地模拟体内微环境,结合免疫和其他基质成分,类器官有望推动精准癌症治疗的实现。通过建立PDO/免疫细胞共培养系统,Koh等研究程序性死亡受体1(programmed cell death 1,PD-1)/程序性死亡受体-配体1(programmed cell death-ligand 1,PD-L1)的阻断作用,以及髓源性抑制细胞(myeloid-derived suppressor cells,MDSCs)的抑制效果<sup>[11]</sup>,结合临床前及临床数据说明与卡博替尼或舒尼替尼联合治疗,可以消除MDSCs介导的纳武利尤单抗耐药。此外,将GCO与肿瘤相关成纤维细胞、自然杀伤细胞等共培养<sup>[12]</sup>,最大程度地还原胃癌真实的病理生理学状态,为胃癌的治疗提供新策略。

### 2.2 发现治疗新靶点

通过CRISPR-Cas9(clustered regularly interspaced-short palindromic repeats/CRISPR-associated proteins)、质粒和慢病毒转染等基因编辑技术,GCO能够深入探究特定基因的干预如何影响癌症的发展进程以及药物的驱动效果,助力发现临床治疗的新靶点。例如:通过敲除胃食管交界部(gastroesophageal junction,GEJ)类器官中的两个关键抑癌基因——肿瘤蛋白p53和细胞周期蛋白依赖性激酶抑制因子2A(cyclin-dependent kinase inhibitor 2A,CDKN2A)<sup>[13]</sup>,研究者发现了GEJ肿瘤早期诊断和预防的新靶点-血小板激活因子。利用类器官模型研究者还揭示,通过靶向黏着斑激酶(focal adhesion kinase,FAK)、Yes相关蛋白(yes-associated protein,YAP)或异常聚糖,可实现对胃癌的精准干预<sup>[14-15]</sup>。

利用 GCO 结合 CRISPR/Cas9 技术进行的文库筛选,以及基于开放阅读框(open reading frame, ORF)的基因组规模筛选,为高通量研究基因功能、评估药物疗效和发现临床治疗新靶点提供有力工具。Mircetic J 等利用胃癌 PDO 进行负向 CRISPR 文库筛选<sup>[16]</sup>,成功鉴定出组蛋白赖氨酸去甲基化酶 1A (histone lysine demethylase 1A, KDM1A)-N-骨髓细胞瘤癌基因的下游调节基因 1 (N-myelocytomatosis downstream regulates gene 1, NDRG1)轴作为一个可靶向的胃癌易感基因。这一发现表明了 GCO 在识别关键分子通路和易感基因方面的重要性。Peng 等在 *Cdh1<sup>-/-</sup>RHOA<sup>Y42C/+</sup>* 弥漫型 GCO 建立 ORF 的基因组规模文库筛选<sup>[17]</sup>,发现细胞周期蛋白依赖性激酶 6 (cyclin dependent kinase 6, CDK6) 促进 FAK 抑制剂耐药,进一步指出 FAK 抑制剂与 CDK4/6 抑制剂联合使用值得在弥漫型胃癌的临床试验中进一步测试,这项研究不仅展示了 GCO 在药物筛选和耐药性研究中的应用,也强调了其在发现治疗新靶点和精准治疗方面的潜力。

### 2.3 预测临床治疗反应

类器官是基础研究与临床转化的纽带,体外 GCO 可以通过对化疗、靶向治疗、免疫治疗等药物的反应预测患者的预后情况,在早期筛选到低毒性、高治疗指数的候选药物,优化手术台至病床边的过渡流程,为临床治疗提供科学指导。Vlachogiannis G 等为测试类器官对预测个体治疗反应的有用性,通过比较抗肿瘤药物的离体反应与临床试验中的患者反应<sup>[18]</sup>,指出类器官预测靶向药或化疗药的反应达到 100% 敏感性、93% 特异性、88% 阳性预测值、100% 阴性预测值。类器官在癌症治疗的前瞻性临床试验中具有评估价值,有助于精准预测药物治疗的疗效。一项研究采用类器官模型对 8 例患者进行临床回顾和观察,其中 6 例 PDO 药敏试验结果与临床反应高度吻合,1 例 PDO 准确预测患者对卡培他滨和奥沙利铂的敏感性<sup>[19]</sup>。Schmäche T 等从 120 例局部晚期食管胃腺癌 (esophago-gastric adenocarcinoma, EGC) 患者的活检组织培养 PDO<sup>[20]</sup>,将其对 FLOT (氟尿嘧啶+亚叶酸钙+奥沙利铂+多西他赛) 化疗的反应与患者新辅助 FLOT 后的病理退化等级进行相关性分析,指出基于 PDO 阈值可预测 EGC 患者对新辅助化疗的反应。

### 2.4 指导个体化精准治疗

GCO 能够捕获原发胃癌的基因组和表型特征,通过其对临床治疗反应的预测,辅助医生为患者定制个性化治疗方案,提高治愈率和治疗效益。尽管人表皮生长因子受体 2 (human epidermal growth factor receptor 2, HER2) 靶向治疗为 HER2 阳性胃癌患者提供了一种治疗选择,但许多患者对这种治疗的反应并不理想。一项研究开发靶向 PD-1 和 HER2 的重组人 IgG1 双特异性抗体 IBI315,在 PDO 中进行临床前评估研究<sup>[21]</sup>,结果表明 IBI315 将作为一种有前途的基于双特异性抗体的免疫治疗方法,用于治疗 Her2 阳性胃癌。另一项报道在培养的肿瘤球和类器官中研究 YAP 和 B 细胞淋巴瘤 2 (B-cell lymphoma 2, Bcl2) 家族成员之间复杂的相互作用<sup>[22]</sup>,提出一种新的有效治疗转移性胃癌的个体化治疗策略,YAP 和 Bcl-2 导致的合成致死也为克服临床耐药问题提供潜在的策略。

## 3 问题与展望

肿瘤类器官作为一项突破性的体外模型,在模拟肿瘤生物学特性、推动药物筛选和制定个体化治疗方案等方面展现出巨大的潜力,已经成为肿瘤学、药理学以及临床治疗研究中的一个热点领域。但是类器官仅由上皮层组成、周围没有间充质,缺乏功能性的免疫系统、血管系统或神经系统,这些问题需要在未来的研究和应用中得到妥善解决,以推动类器官技术向更深层次的发展和运用。

类器官的终极目标是无限接近体内真实环境,为此研究人员已取得一系列突破性进展:美国辛辛那提儿童医院干细胞和类器官医学中心在人体 PSC 来源的类器官中模拟血脑屏障形成和海绵状血管瘤,开发了世界上第一个涵盖血脑屏障完全功能的“迷你人脑”<sup>[23]</sup>;将类器官与生物打印和微流控芯片技术相结合,能够模拟天然肿瘤的复杂结构和流体动力学,从而深入探索 TME,开发更有效的治疗方案<sup>[24]</sup>;一项医学进展实现内胚层干细胞向功能性 E-胰岛的转化<sup>[25]</sup>,为糖尿病患者提供新的治疗选择。随着类器官技术的不断进步,我们相信其在未来能够实现更高层次的优化和完善。类器官将作为探究癌症发生进展机制和开发癌症治疗药物的重要工具,加速个体化医疗方案的实施,为临床治疗提供更精确的指导,助力医疗水平迈向新高度。

## 参考文献:

- [1] Bray F, Laversanne M, Sung H, *et al.* Global cancer statistics 2022; GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. *CA Cancer J Clin*, 2024,74:229-263.
- [2] 郑荣寿, 陈茹, 韩冰峰, 等. 2022 年中国恶性肿瘤流行情况分析[J]. *中华肿瘤杂志*, 2024, 46: 221-231.
- [3] Thrift AP, Wenker TN, El-Serag HB. Global burden of gastric cancer; epidemiological trends, risk factors, screening and prevention[J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2023, 20:338-349.
- [4] Lordick F, Carneiro F, Cascinu S, *et al.* Gastric cancer: ESMO Clinical Practice Guideline for diagnosis, treatment and follow-up[J]. *Ann Oncol*, 2022,33:1005-1020.
- [5] Sato T, Vries R G, Snippert HJ, *et al.* Single Lgr5 stem cells build crypt-villus structures in vitro without a mesenchymal niche[J]. *Nature*, 2009,459:262-265.
- [6] LeSavage BL, Suhar RA, Broguiere N, *et al.* Next-generation cancer organoids[J]. *Nat Mater*, 2022,21:143-159.
- [7] Marx V. Closing in on cancer heterogeneity with organoids [J]. *Nat Methods*, 2024,21:551-554.
- [8] Yan H, Chan AS, Lai FP, *et al.* Organoid cultures for cancer modeling[J]. *Cell Stem Cell*, 2023,30:917-937.
- [9] McCracken KW, Catú EM, Crawford CM, *et al.* Modelling human development and disease in pluripotent stem-cell-derived gastric organoids[J]. *Nature*, 2014,516:400-404.
- [10] Huang XZ, Pang MJ, Li JY, *et al.* Single-cell sequencing of ascites fluid illustrates heterogeneity and therapy-induced evolution during gastric cancer peritoneal metastasis [J]. *Nat Commun*, 2023, 14: 822. doi: 10.1038/s41467-023-36310-9.
- [11] Koh V, Chakrabarti J, Torvund M, *et al.* Hedgehog transcriptional effector GLI mediates mTOR-Induced PD-L1 expression in gastric cancer organoids[J]. *Cancer Lett*, 2021,518:59-71.
- [12] Yao L, Hou J, Wu X, *et al.* Cancer-associated fibroblasts impair the cytotoxic function of NK cells in gastric cancer by inducing ferroptosis via iron regulation [J]. *Redox Biol*, 2023,67:102923. doi:10.1016/j.redox.2023.102923.
- [13] Zhao H, Cheng Y, Kalra A, *et al.* Generation and multiomic profiling of a TP53/CDKN2A double-knockout gastroesophageal junction organoid model[J]. *Sci Transl Med*, 2022, 14: eabq6146. doi: 10.1126/scitranslmed.abq6146.
- [14] Zhang F, Sahu V, Peng K, *et al.* Recurrent RhoGAP gene fusion CLDN18-ARHGAP26 promotes RHOA activation and focal adhesion kinase and YAP-TEAD signalling in diffuse gastric cancer [J]. *Gut*, 2024; gutjnl-2023-329686. doi: 10.1136/gutjnl-2023-329686.
- [15] Arai J, Hayakawa Y, Tateno H, *et al.* Impaired glycosylation of gastric mucins drives gastric tumorigenesis and serves as a novel therapeutic target[J]. *Gastroenterology*, 2024. doi:10.1053/j.gastro.2024.03.037.
- [16] Mircetic J, Camgöz A, Abohawya M, *et al.* CRISPR/Cas9 screen in gastric cancer patient-derived organoids reveals KDM1A-NDRG1 axis as a targetable vulnerability [J]. *Small Methods*, 2023, 7: e2201605. doi: 10.1002/smt.202201605.
- [17] Peng K, Zhang F, Wang Y, *et al.* Development of combination strategies for focal adhesion kinase inhibition in diffuse gastric cancer[J]. *Clin Cancer Res*, 2023,29:197-208.
- [18] Vlachogiannis G, Hedayat S, Vatsiou A, *et al.* Patient-derived organoids model treatment response of metastatic gastrointestinal cancers[J]. *Science*, 2018,359:920-926.
- [19] Zu M, Hao X, Ning J, *et al.* Patient-derived organoid culture of gastric cancer for disease modeling and drug sensitivity testing [J]. *Biomed Pharmacother*, 2023,163: 114751. doi:10.1016/j.biopha.2023.114751.
- [20] Schmäche T, Fohgrub J, Klimova A, *et al.* Stratifying esophago-gastric cancer treatment using a patient-derived organoid-based threshold[J]. *Mol Cancer*, 2024, 23: 10. doi:10.1186/s12943-023-01919-3.
- [21] Lin W, Zhang Y, Yang Y, *et al.* Anti-PD-1/Her2 bispecific antibody IBI315 enhances the treatment effect of Her2-positive gastric cancer through gasdermin B-cleavage induced pyroptosis [J]. *Adv Sci (Weinh)*, 2023, 10: e2303908. doi:10.1002/advs.202303908.
- [22] Kwon JW, Oh JS, Seok SH, *et al.* Combined inhibition of Bcl-2 family members and YAP induces synthetic lethality in metastatic gastric cancer with RASA1 and NF2 deficiency[J]. *Mol Cancer*, 2023,22:156. doi:10.1186/s12943-023-01857-0.
- [23] Dao L, You Z, Lu L, *et al.* Modeling blood-brain barrier formation and cerebral cavernous malformations in human PSC-derived organoids [J]. *Cell Stem Cell*, 2024, 31: 818-833.
- [24] Hwangbo H, Chae S, Kim W, *et al.* Tumor-on-a-chip models combined with mini-tissues or organoids for engineering tumor tissues[J]. *Theranostics*, 2024,14:33-55.
- [25] Wu J, Li T, Guo M, *et al.* Treating a type 2 diabetic patient with impaired pancreatic islet function by personalized endoderm stem cell-derived islet tissue [J]. *Cell Discov*, 2024, 10:45. doi:10.1038/s41421-024-00662-3.