

类器官在乳腺癌相关研究中的应用进展

郑潇, 李家俊, 盛杰, 卓情, 杜庆, 徐瑶

武汉科技大学 生命科学与健康学院 生物医学研究院, 湖北 武汉 430081

郑潇, 李家俊, 盛杰, 等. 类器官在乳腺癌相关研究中的应用进展. 生物工程学报, 2021, 37(2): 395-403.

Zheng X, Li JJ, Sheng J, et al. Exploration of organoid in breast cancer related research. Chin J Biotech, 2021, 37(2): 395-403.

摘要: 乳腺癌是女性最常见的癌症, 目前乳腺癌的研究主要借助体内模型和传统细胞培养方法, 然而研究表明, 由于人类和动物之间固有的物种差异, 以及器官和细胞之间组织结构的差异, 使用上述两种研究方法研制出的药物, 在临床试验中失败率高达 90%, 因此, 类器官三维培养应运而生。类器官是一种具有空间结构的三维细胞复合体, 它作为一种新的肿瘤研究模型, 在精准医疗、器官移植、建立难治疾病模型、基因治疗和药物研发等方向具有广阔的应用前景, 是未来生命科学研究理想载体之一。乳腺癌作为一种表型复杂的异质性疾病, 其患者生存率较低, 而乳腺癌类器官可以重现人类乳腺癌的许多关键特征, 故构建乳腺癌类器官生物库, 将会为研究乳腺癌的发生、发展、转移和耐药机制提供一个新的平台。文中将系统介绍类器官的培养条件及其在乳腺癌相关研究中的应用, 并对类器官的应用前景进行展望。

关键词: 类器官, 3D 培养, 乳腺癌细胞系, 个性化药物治疗

Exploration of organoid in breast cancer related research

Xiao Zheng, Jiajun Li, Jie Sheng, Qing Zhuo, Qing Du, and Yao Xu

Institute of Biology and Medicine, College of Life Science and Health, Wuhan University of Science and Technology, Wuhan 430081, Hubei, China

Abstract: Breast cancer is the most common cancer in women. At present, the *in vivo* model and traditional cell culture are mainly used in breast cancer researches. However, as high as 90% clinical trials are failed for drugs explored by the above two methods, due to the inherent species differences between humans and animals, as well as the differences in the tissue structure between organs and cells. Therefore, organoid three-dimensional culture is emerging. As a new tumor research model, organoid, a three-dimensional cell complex with spatial structure, has broad application prospects, such as precision medicine, organ transplantation, establishment of refractory disease model, gene therapy and drug research and development. Therefore, organoid is considered as one of the ideal carriers for life science research in the future. Breast cancer, a heterogeneous disease with complex phenotypes, has a low survival rate. Breast cancer organoid can reproduce many key features of human breast

Received: March 18, 2020; **Accepted:** September 8, 2020

Supported by: National Natural Science Foundation of China (Nos. 31600617, 81802008), Scientific Research Program of Hubei Provincial Education Department (No. Q20181102).

Corresponding author: Yao Xu. Tel/Fax: +86-27-68893368; E-mail: xuyao0307@wust.edu.cn

国家自然科学基金 (Nos. 31600617, 81802008), 湖北省教育厅科学研究计划 (No. Q20181102) 资助。

网络出版时间: 2020-10-14

网络出版地址: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.1998.Q.20201013.1519.007.html>

cancer, thus, the construction of organoid biological library of breast cancer will provide a new platform for studying the occurrence, development, metastasis and drug resistance mechanism of breast cancer. In this review, we systematically introduce the culture conditions of organoids and their application in breast cancer related research, and the application prospect of organoids.

Keywords: organoid, 3D culture, breast cancer cell line, personalized medication

乳腺癌 (Breast cancer, BC) 是发生在女性乳腺导管上皮或腺小叶的恶性肿瘤, 是全世界妇女中最常见的癌症和癌症死亡原因, 国家癌症中心于 2019 年 1 月发布的最新的全国癌症统计数据显示, 乳腺癌仍是女性发病第 1 位的恶性肿瘤, 每年发病人数约为 30.4 万^[1]。近些年来, 乳腺癌的发病率持续上升, 对女性的日常生活质量与生命安全造成严重威胁。目前, 乳腺癌的治疗和预后方案主要取决于乳腺癌的分期。术前需准确评估肿瘤的生物特征, 侵犯范围和浸润程度。临床分期提供的关键信息决定了手术方式, 是否需要手术前后的辅助化疗或激素治疗^[2]、放射治疗、前哨淋巴结活检和腋窝淋巴结清扫等。按照乳腺癌的分期、分型, 考虑个体的高危复发因素, 设计最有效的治疗方案, 可以达到一定的治疗效果, 但因其残留病灶极易导致局部乳腺癌复发, 故患者总体生存率不高^[3]。而最近类器官培养的发展为建立和分析病人样本提供了新的机会, 允许恶性细胞在类似于乳腺肿瘤三维生长的条件下繁殖, 它们已被证明在保持原代样本的异质性方面是有效的, 并正在成为进一步表征乳腺癌分子特征的新模型^[4]。在这里, 我们将系统介绍类器官的培养条件及其在乳腺癌相关研究中的应用, 并对类器官的应用前景进行展望。

1 乳腺癌细胞系

迄今为止最流行的人类来源的 BC 模型是细胞系^[5]和病人来源的异种移植 (Patient derived xenotransplantation, PDX)^[6], 尽管这两种模型系统都对转化 BC 的研究作出了巨大贡献, 但这两种方法都有不可克服的缺点^[7], 即细胞系和 PDXs 的衍生是低效的、劳动密集型的, 每个病例需要

几个月的时间, 这使得它们实际上不可能在更大范围内为个体化治疗作出贡献^[8]。

肿瘤细胞系模型是一种重要且有效的癌症研究方法。目前被大家所熟悉的乳腺癌细胞系主要有 MCF-7、ZR-75-30、HS-578T、SK-BR-3、HCC1937、Bcap-37、BT-549、MDA-MB-231/415/453/468/436 等。我们对乳腺癌的相当一部分知识是基于体内和体外乳腺癌细胞系的研究, 几十年来, 临床前的 BC 研究依赖于几十个细胞系作为影响数百万患者的异种疾病的体外表征。其在研究方面具有同源、易复制、几乎可无限增殖、通常比较容易在简单的标准培养基中培养、并且可应用于包括高通量药物筛选在内的大量实验等优势^[9]。虽然肿瘤细胞系模型可以进行高通量筛选, 但其构建成功率低, 很少与个别患者具有临床相关性, 因此在临床研究中, 乳腺癌细胞系模型并没有得到广泛应用。加之建立的肿瘤细胞系大多来源于肿瘤的转移灶或进展较快的肿瘤, 因此原发性或进展缓慢的肿瘤无法得以科学准确地认识与研究, 而且体外培养肿瘤细胞往往使得肿瘤的异质性和适应性缺失, 导致其基因表达更接近于正常组织而非肿瘤组织^[10]。最近的研究表明, 乳腺癌细胞系的遗传和转录组进化可以极大地改变药物对乳腺癌的反应^[11]。还有研究认为细胞系培养模式未能模拟细胞与周围组织微环境之间复杂的相互作用, 为解决肿瘤生长微环境问题, 研究者将人类肿瘤细胞进行体外培养, 筛选出稳定的细胞株并注射到免疫缺陷小鼠体内^[12], 用以模仿人体内肿瘤的发生与发展, 但因为肿瘤细胞株在体外培养传代若干次后, 其只是适应外界培养皿的条件, 而注入小鼠体内后, 肿瘤则表现出与小

鼠的同质性, 丢失了原代肿瘤的重要特性, 因此不能客观准确反映肿瘤的真实发生发展进程, 使得研究效果并没有达到预期效果^[10]。

2 乳腺癌类器官

2.1 类器官

2014年 Lancaster 在 *Science* 中将“类器官 (Organoid)”明确定义为: 以干细胞或器官祖细胞为原料, 经过体外培养, 能发生细胞分化以及谱系定向, 即自组装为器官样结构的细胞群^[13]。类器官可根据其来源分为 3 类, 即源于胚胎干细胞 (Embryonic stem cells, ESCs) 的类器官、源于诱导多能干细胞 (Induced pluripotent stem cells, iPSCs) 的类器官、源于成体干细胞 (Adult stem cells, ASCs) 的类器官, 因不同类型的干细胞生

物学特性有一定差异, 故各类型类器官的应用前景也有所不同。ESCs 类器官可以模拟体内器官发育, 在形态学特征研究及器官移植方面具有优势; iPSCs 和 ASCs 类器官可在精准医疗、难治疾病建模及药物筛选领域发挥较大的作用^[14]。研究发现, 肿瘤类器官拷贝数变异信号经过连续传代后, 仍能有效保留^[10]。故类器官在肿瘤研究中有以下的优点: 维持肿瘤细胞的高度异质性; 维持肿瘤细胞与微环境基质的接触极性, 更好地模拟体内的肿瘤微环境; 来源临床组织的类器官培养效率高、耗时少; 肿瘤类器官同时具备肿瘤细胞系可进行遗传操作的优点和小鼠人源性肿瘤组织异种移植 (PDX) 模型三维复杂系统特性^[15]。综上诸多优点, 下面以导图的形式来展示病人源性肿瘤类器官及其应用, 见图 1。

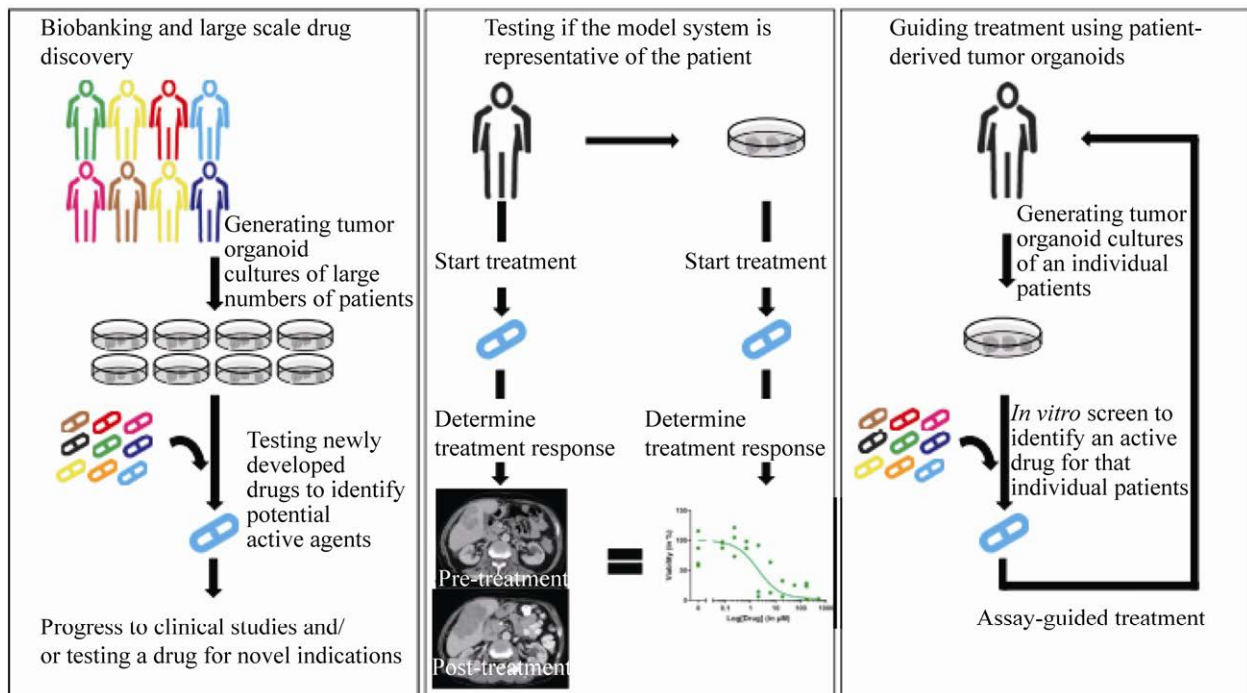


图 1 病人源性肿瘤类器官及其应用^[36]

Fig. 1 Patient-derived tumor organoids and their applications. This figure summarizes the potential of patient-derived tumor organoids. Because of their high culture take rate, they can be used to establish large and well characterized biobanks that comprise the entire spectrum of molecular subtypes per tumor type. This can facilitate large-scale drug screening efforts. Furthermore, organoids lend themselves for a drug-sensitivity comparison with the individual patient responses because of their high take rates. Finally, patient-derived tumor organoids have the potential to select therapy for the individual patient if there are no regular treatment options left^[36].

2.2 用于乳腺癌研究的有机型模型

在过去的 30 年里,体内模型和二维细胞培养在乳腺癌临床前研究中占主导地位,而现在的趋势是建立有机型模型,因为它们概括了人乳腺(Human mammary gland, HMG)的组织和功能分化,允许检查不同细胞群之间复杂的相互作用,以及对决定肿瘤行为的因素的理解。与动物实验相比,在新药研究的早期阶段,有机型模型具有改进药物检测和鉴别有毒和无效物质的潜力^[9]。同时也有利于减少体内试验的数量,毕竟最近几年,体内试验被认为是有道德争议的,而且非常昂贵^[16]。以下是对近年来几种研究乳腺癌细胞热门技术优缺点的对比表格,见表 1。

通过对比表 1,类器官保存了原发肿瘤的组织结构、基因表达和基因组结构。Liu 等研究表明,与细胞系相比,类器官更接近患者样本的转

录组,能保持自身遗传的稳定性,这是药物检测的一个关键特征^[17]。这激发了人们对这项新技术检测药物基因型相关性潜力的极大热情,并因此将其作为药物发现的平台。Sachs 等^[8]已经完成了乳腺癌组织和器官的全基因组测序,类器官的基因表达谱表明,所有主要的乳腺癌亚型均在类器官人群中存在,这就进一步强调了它们作为乳腺癌代表性模型的潜力。

2.3 乳腺癌类器官培养条件的探索

“类器官”一词反映了培养条件促使细胞自组织成结构的能力,这些结构模仿了器官的结构,而这些结构是在保持细胞-细胞和细胞-细胞外基质相互作用的同时产生的^[19]。与传统的二维培养相比,类器官的微环境更接近原始的肿瘤微环境,而肿瘤微环境最近被认为是有效的治疗靶点,是耐

表 1 不同方法维持和研究人类乳腺癌细胞的优缺点^[4,6,18]

Table 1 advantages and disadvantages of different methods to maintain and study human breast cancer cells^[4,6,18]

Method	Advantages	Disadvantages
Two-dimensional culture	Easy to maintain and expand Easy to manipulate genetically Easy high throughput drug screening Low cost	Loss of tumor heterogeneity Genetic drift between different laboratories Lack of cell polarization Lack of microenvironment Discrepancy with <i>in vivo</i> drug response
Patient-derived xenografts	Interaction with stroma Strong drug response correlation Recapitulate natural environment Recapitulate the origin of the tumor (subtypes and heterogeneity) Maintain histological, genomic, transcriptomic Safety and efficacy of drugs Drug combinations	Hard to initiate Resource and time consuming Defective immune system Not suitable for high-throughput drug Undergo mouse-specific selection Rely on mouse microenvironment
Organoids	Relatively easy to initiate Easy to maintain, expand Manipulate genetically Retain cell-cell interactions Preservation of cell matrix interaction Maintain cell polarization Presence of some stromal cells Matrigel recreates mammary gland stiffness Suitable for high-throughput drug screens Study of drug resistance Maintain histological, genomic, transcriptomic Features of tissue of origin, tumor heterogeneity Co-culture with elements of the microenvironment (pathogens and immune cells)	Lack of microenvironment (immune cells, vascular system, microbiota) Batch-to-batch differences in Matrigel Lack of protocol and media standardization

药性的潜在因素^[20]。20世纪80年代, Bissell等率先开发了三维(3D)培养物, 并以乳腺癌为背景, 阐明了细胞外基质(Extracellular matrix, ECM)对基因表达的影响^[21], 2001年, Bissell等进一步发现, 各种ECMs在维持小鼠乳腺细胞的形态和功能方面发挥着重要作用^[22]。受乳腺上皮三维细胞培养系统的启发, Lee等^[23]建立了培养方案, 允许三维上皮类器官的产生和长期扩展。类器官通常生长在基质中, 如基质凝胶、胶原蛋白或肽水凝胶, 目的是用基质凝胶模拟乳腺上皮的正常微环境。类器官的微环境是由细胞来源(例如, 以自分泌、旁分泌、或近分泌的信号)或外源性添加到系统中的物质(例如在ECM基板的各种小分子和生长因子)等组成, 这些因素相互作用形成了一个具有结构和功能的动态环境, 这个环境在时间和空间上引导着干细胞的自我更新、分化及形成类器官^[24]。另有研究表明, 内皮细胞生长可形成毛细血管网, 将内皮细胞和成纤维细胞共培养到3D内源性基质中, 可以产生和储存支持毛细血管形态形成所需的促血管生成因子, 这正是类器官微环境中所需的。而由基质细胞、免疫细胞、血管细胞和结构ECM组成的微环境已被证明对乳腺癌的发生和发展具有强大的影响^[25]。所以进一步开发与基质细胞共培养的人肿瘤类器官系统, 对重建体内肿瘤具有重要意义。

Sachs等^[8]发现, 将分离的细胞置于巯基乙醇滴液中, 用优化的BC类有机培养基覆盖, 相比之前建立的人体器官协议, 这次加了有丝分裂原神经调节蛋白1(Neuregulin-1)^[26]。Neuregulin-1是人表皮生长因子受体(Human epidermal growth factor receptor, HER)酪氨酸激酶-3和-4的配体, 与乳腺癌的发展和肿瘤的发生有关^[22-27-28], Neuregulin-1已被证明可以延长正常乳腺类器官的生长^[29]。Sachs等进一步注意到: (1)添加Wnt-3A并没有显著改善培养条件; (2)表皮生长因子(Epidermal growth factor, EGF)浓度高于

5 ng/3 mL时, 细胞增殖增加, 但引起BC类器官逐渐沉入巯基乙醇滴液并失去其三维组织; (3) 1 mmol/L以上的SB202190浓度降低了类器官的建立效率; (4)加入特异性Rho相关蛋白激酶(ROCK)抑制剂Y-27632可改善培养条件^[30]。

3 类器官在乳腺癌研究中的应用

3.1 乳腺癌发生发展中的应用

乳腺癌类器官被用于阐明肿瘤发生和转移的途径, 如整合素和人表皮生长因子受体, FZD6和Malat1长链非编码RNA等在肿瘤前组织中的作用得到了证实, 揭示了RANK配体和JNK在乳腺和乳腺癌发展中的重要性, 以及转录因子Slug和Sox9对乳腺干细胞命运的贡献^[31]。另一个例子是Chandhoke等^[32]发现并阐明了Smurf2在控制乳腺癌发病机制中的作用, 即用数据证明了E3泛素连接酶Smurf2以一种依赖于小泛素样修饰物途径(Sumoyling)的方式抑制MDA-MB-231人乳腺癌细胞来源的器官的侵袭行为。而上皮-间质转化(Epithelial mesenchymal transition, EMT)与包括乳腺癌在内的各种类型癌症的侵袭和转移增加有关, 了解EMT在三阴性乳腺癌中是如何调控的, 将有助于发现治疗乳腺癌的新方法; 他们还发现SUMO E3连接酶PIAS3通过Smurf2的sumoylation使乳腺癌的类器官维持在非侵袭性状态。Chanda等^[33]在机制研究中, 也发现PIAS1通过转录调节子SnoN的sumoylation来抑制人乳腺癌细胞来源的类器官的侵袭行为。这些发现确定了PIAS1、PIAS3在乳腺癌发病机制中的潜在关键作用, 为开发新的乳腺癌生物标志物和靶向治疗方法奠定了基础, 对我们理解乳腺癌的发病机制和治疗有重要意义。Cheung等^[34]在乳腺肿瘤类器官的培养过程中发现, 入侵发生最早的细胞是表达Ck14和P6的细胞, Ck14在临床患者的原位肿瘤和肺转移的肿瘤入侵的边界处表达水平较

高^[15]。而将 Ck14 敲低的肿瘤类器官移植到小鼠体内后发现该肿瘤失去了侵略性,最终利用乳腺肿瘤类器官模型证明了该入侵行为是由一群基底样的上皮细胞所“领导”起始的,该工作为研究乳腺癌转移的起始机制奠定了理论基础^[15]。Diermeier 等^[35]使用从恶性和健康的小鼠组织中生长的器官样本来识别许多 lncRNA (Long non-coding RNAs) 在乳腺癌进展中的重要性,11 种不同的 lncRNA 被单独敲除后,仅在从肿瘤中产生的类器官中分支减少,而在健康组织中则没有,这意味着这些 lncRNA 在细胞集体迁移中具有癌症特异性的作用。另有研究发现 BRCA1 突变个体与无突变个体乳腺组织的一个差异,即与 BRCA1 相关的乳腺癌组织,其管腔祖细胞数量会增加,而研究者发现在患者来源的器官样体培养中,管腔祖细胞的数量可以维持。因此,人类乳腺上皮类器官可作为肿瘤发生模型,用于 BRCA1 相关的 BCs 的细胞起源研究,并使直接检测肿瘤相关改变对管腔祖细胞的影响成为可能^[18]。

3.2 乳腺癌基因编辑中的应用

基因编辑技术的发展促进和改善了在基因水平上对类器官的操作,使进行经生物行为验证的基因组批量研究成为可能。有机类培养技术与多层次、多群体的研究技术相结合,是乳腺癌研究的有效模式。利用 CRISPR/Cas9 系统编辑类器官,可以验证或发现肿瘤发生过程中起关键作用的基因,CRISPR/Cas9 被用来研究 brca1 缺陷小鼠乳腺肿瘤中 PARP (Poly ADP-ribose polymerase, PARP) 抑制剂反应背后的机制,还可以被用来研究 brca1 缺陷小鼠肿瘤的耐药性^[36]。Drost 等^[37]利用结肠类器官结合 CRISPR/Cas9 技术来研究突变特征的起源,类似的策略也可用于乳腺类器官进一步细化分子亚型。Duarte 等^[38]利用 CRISPR-Cas9 基因编辑培养出具有 Trp53bp1 突变的 PARPi-naïve brca1 缺陷的乳腺肿瘤类器官,并在体内检测奥拉帕尼(一种 PARP 抑制剂)治疗

的反应,与高度敏感的对照肿瘤器官相比,靶向组织 KB1PM 的 Trp53bp1 移植瘤器官对奥拉帕尼的反应有限。结果表明,即使不经 PARPi (PARP 抑制剂) 治疗,53BP1 的缺失也能在 KB1PM 肿瘤细胞中产生明显的选择性优势。免疫组化分析证实 53BP1 阳性肿瘤细胞缺失。这与已知的 53BP1 缺失在 PARPi 抗性中的作用是一致的,这些结果表明 CRISPR/CAS9 系统可以有效地修饰免疫肿瘤研究之基因工程鼠模型来源的乳腺肿瘤器官,使之成为靶基因。还有研究小组已经成功地使用 CRISPR/Cas9 技术来调查致癌转化和模型肿瘤发生,通过在 APC、TP53 和 SMAD4 缺失的健康类器官中产生不同的突变背景组合,激活 KRAS 和 PIK3CA 的突变,进而研究乳腺肿瘤的发生发展^[37]。

3.3 乳腺癌药物检测方面的应用

乳腺癌类器官是研究乳腺癌治疗化合物和单独药物治疗的一个有吸引力的选择,一些研究小组已经通过一系列的综合实验测试了它们在药物筛选方面的潜在价值。这一 3D 有机类型系统已被用于评估临床相关抗肿瘤药物的反应,如紫杉醇、抗 Her2 抗体、曲妥珠单抗、磷脂酰肌醇-3-激酶途径抑制剂 XL147 及其组合^[16]。Sachs 等^[8]建立了乳腺癌患者类器官样本库,样品库中 80% 以上乳腺癌类器官完好保持了原始肿瘤组织,如雌/孕激素受体 (E/PR) 和人类表皮生长因子受体 (HER-2) 的分子分型,基因测序结果表明乳腺类器官同时保持了患者肿瘤基因组拷贝数及突变,此模型对 HER-2 靶向药物吉非替尼和阿法替尼的测试结果与患者情况一致,说明类器官模型具有与体内癌症相似的性质,这就为进一步研究乳腺癌药物治疗提供了机会^[41]。乳腺癌类器官对三苯氧胺的体外反应与各自患者的反应一致,这就表明乳腺类器官在体内可作为乳腺癌的体外预测替代物。研究者们从不同亚型乳腺癌患者体内分离出类器官,并对其进行一系列乳腺癌药物

治疗,使用 OMI (Optical metabolic imaging) 评估原发乳腺肿瘤组织对一组临床相关抗癌药单独或联合使用的反应^[39-40],即用光学代谢成像来量化 NADH 和 FAD 的荧光强度和半衰期,从而测量对治疗的敏感性。他们发现 HER-2+/ER 及三阴乳腺癌类器官在曲妥珠单抗治疗后表现与临床一致,而在肿瘤细胞株结果中并未检测到如类器官中 NADH 半衰期的变化,且细胞株 OMI 响应的消除速率比类器官慢 7 倍,说明类器官可弥补单层细胞培养作为药物评价中的缺陷^[41]。

4 乳腺癌类器官的展望

近年来,许多实验室已成功挑战从患者样本中培养出类器官,不同的实验室通过建立不同的实验方案,使用多种类型的抑制剂和生长因子来寻找最佳的培养基来促进它们的生长,使得乳腺癌类器官技术发展迅速,但这个研究热潮也带来了一些潜在的问题,即不同的实验方案影响了实验结果,阻碍了数据之间的比较分析^[42-43]。因此为了保证可重复培养,我们需要建立一个标准的协议,即在保持独立实验的硬度水平上,系统地整合类器官微环境的组成部分,以增加这些体外系统的复杂性,进而总结培养乳腺癌类器官的最佳条件。建立肿瘤类器官的另一个明显的挑战是潜在的污染以及随后的过度生长。在结直肠肿瘤类器官中,只要对正常组织体外繁殖所必需的培养因子进行修饰,就可以去除正常的类器官,而在其他一些培养中,这却被证明是比较困难的^[44]。所以对于比较复杂的乳腺癌,这可能是一个巨大的挑战。

类器官可与不同类型的细胞共同培养,如免疫细胞或病原体,以分析感染因子、免疫系统和癌症进展之间的关系。Dijkstra 等^[45]的报告表明,与来自同一患者的外周血淋巴细胞共同培养肿瘤细胞器可产生肿瘤反应性 T 细胞,这些 T 细胞有能力杀死直肠癌的类器官。V δ 2⁺T 淋巴细胞和来

源于人类乳腺上皮细胞的类器官已成功共培养,而这些 T 淋巴细胞可以有效地消除三阴乳腺癌 (Triple negative breast cancer, TNBC) 细胞^[2]。这些发现表明,健康献血者的 T 淋巴细胞可以被类器官放大和激活,然后用于治疗病人。另一种新兴的策略是将类器官移植到动物体内,这种方法可以提高移植的速度,增加肿瘤生长速度和减少通道的数量,进而扩大更多动物的肿瘤,但这还需要大量的研究来进一步揭示在移植前培养类器官的优势,这也可能是为基因修饰或其他作用的一种方式^[46]。

综上所述,近年的报告优化了类器官的使用,并证明了它们是一个有希望来概括患者肿瘤特征的系统。到目前为止,还没有太多关于乳腺癌类器官的研究报道。而恶性和健康的结直肠器官最近已经被测序,整合了遗传、表观遗传、转录组和功能分析。所以乳腺癌类器官在临床方面的应用还需继续探索,相信在不久的将来,类器官在乳腺癌方面的应用会越来越多,个性化治疗和药物选择终将实现。

REFERENCES

- [1] Libson S, Lippman M. A review of clinical aspects of breast cancer. *Int Rev Psychiatry*, 2014, 26(1): 4-15.
- [2] Zumwalde NA, Haag JD, Sharma D, et al. Analysis of immune cells from human mammary ductal epithelial organoids reveals V δ 2⁺ T cells that efficiently target breast carcinoma cells in the presence of bisphosphonate. *Cancer Prev Res (Phila)*, 2016, 9(4): 305-316.
- [3] Saini KS, Taylor C, Ramirez AJ, et al. Role of the multidisciplinary team in breast cancer management: results from a large international survey involving 39 countries. *Ann Oncol*, 2012, 23(4): 853-859.
- [4] Roelofs C, Hollande F, Redvers R, et al. Breast tumour organoids: promising models for the genomic and functional characterisation of breast cancer. *Biochem Soc Trans*, 2019, 47(1): 109-117.
- [5] Holliday DL, Speirs V. Choosing the right cell line

- for breast cancer research. *Breast Cancer Res*, 2011, 13(4): 215.
- [6] Whittle JR, Lewis MT, Lindeman GJ, et al. Patient-derived xenograft models of breast cancer and their predictive power. *Breast Cancer Res*, 2015, 17(17): 2-13.
- [7] Vargo-Gogola T, Rosen JM. Modelling breast cancer: one size does not fit all. *Nat Rev Cancer*, 2007, 7(9): 659-672.
- [8] Sachs N, De Ligt J, Kopper O, et al. A living biobank of breast cancer organoids captures disease heterogeneity. *Cell*, 2018, 172(1/2): 373-386.e10.
- [9] Yang LP, Liu BE, Chen HD, et al. Progress in the application of organoids to breast cancer research. *J Cell Mol Med*, 2020, 24(10): 5420-5427.
- [10] 代亮, 张志东, 田垚, 等. 类器官在前列腺癌相关研究中的作用探索. *天津医药*, 2015, 43(8): 946-950.
Dai L, Zhang ZD, Tian Y, et al. The role of organoids in prostate cancer related research. *Tianjin Med J*, 2015, 43(8): 946-950 (in Chinese).
- [11] Ben-David U, Siranosian B, Ha G, et al. Genetic and transcriptional evolution alters cancer cell line drug response. *Nature*, 2018, 560(7718): 325-330.
- [12] Drost J, Clevers H. Organoids in cancer research. *Nat Rev Cancer*, 2018, 18(7): 407-418.
- [13] 吴宇琪. 乳腺癌的体外类器官培养和个性化药物选择[D]. 北京: 北京协和医学院, 2018.
Wu YQ. *In vitro* organ culture and personalized drug selection for breast cancer[D]. Beijing: Peking Union Medical College, 2018 (in Chinese).
- [14] 马琛婧, 杨媛, 张冰琳, 等. 类器官的研究现状及应用前景. *昆明医科大学学报*, 2019, 40(6): 1-5.
Ma CJ, Yang Y, Zhang BL, et al. Research status and application prospect of organoid. *J Kunming Med Univ*, 2019, 40(6): 1-5 (in Chinese).
- [15] 李飞, 高栋. 类器官及其在肿瘤研究中的应用. *中国细胞生物学学报*, 2017, 4: 394-400.
Li F, Gao D. Organoid and its application in tumor research. *Chinese J Cell Biol*, 2017, 4: 394-400 (in Chinese).
- [16] Carranza-Rosales P, Guzmán-Delgado NE, Carranza-Torres IE, et al. Breast organotypic cancer models//Current Topics in Microbiology and Immunology. Berlin, Heidelberg: Springer, 2018.
- [17] Liu K, Newbury PA, Glicksberg BS, et al. Evaluating cell lines as models for metastatic breast cancer through integrative analysis of genomic data. *Nat Commun*, 2019, 10: 2138.
- [18] Rosenbluth JM, Schackmann RCJ, Gray GK, et al. Organoid cultures from normal and cancer-prone human breast tissues preserve complex epithelial lineages. *Nat Commun*, 2020, 11: 1711.
- [19] Fujii M, Matano M, Toshimitsu K, et al. Human intestinal organoids maintain self-renewal capacity and cellular diversity in niche-inspired culture condition. *Cell Stem Cell*, 2018, 23(6): 787-793.e6.
- [20] Mazio C, Casale C, Imperato G, et al. Recapitulating spatiotemporal tumor heterogeneity *in vitro* through engineered breast cancer microtissues. *Acta Biomater*, 2018, 73: 236-249.
- [21] Bissell MJ, Hall HG, Parry G. How does the extracellular matrix direct gene expression? *J Theor Biol*, 1982, 99(1): 31-68.
- [22] Troyer KL, Lee DC. Regulation of mouse mammary gland development and tumorigenesis by the ERBB signaling network. *J Mammary Gland Biol Neoplasia*, 2001, 6(1): 7-21.
- [23] Lee GY, Kenny PA, Lee EH, et al. Three-dimensional culture models of normal and malignant breast epithelial cells. *Nat Methods*, 2007, 4(4): 359-365.
- [24] 覃艳艳, 刘宇, 柳长柏, 等. 类器官培养的研究进展. *广东医学*, 2016, 37(18): 2827-2828.
Qin YY, Liu Y, Liu CB, et al. Advances in organoid culture. *Guangdong Med J*, 2016, 37(18): 2827-2828 (in Chinese).
- [25] Wang M, Zhao JZ, Zhang LS, et al. Role of tumor microenvironment in tumorigenesis. *J Cancer*, 2017, 8(5): 761-773.
- [26] Sato T, Stange DE, Ferrante M, et al. Long-term expansion of epithelial organoids from human colon, adenoma, adenocarcinoma, and Barrett's epithelium. *Gastroenterology*, 2011, 141(5): 1762-1772.
- [27] Roskoski R Jr. The ErbB/HER family of protein-tyrosine kinases and cancer. *Pharmacol Res*, 2014, 79: 34-74.
- [28] Wansbury O, Panchal H, James M, et al. Dynamic expression of Erbb pathway members during early mammary gland morphogenesis. *J Invest Dermatol*,

- 2008, 128(4): 1009-1021.
- [29] Goldhammer N, Kim J, Timmermans-Wielenga V, et al. Characterization of organoid cultured human breast cancer. *Breast Cancer Res*, 2019, 21(1): 141.
- [30] Liu XF, Ory V, Chapman S, et al. ROCK inhibitor and feeder cells induce the conditional reprogramming of epithelial cells. *Am J Pathol*, 2012, 180(2): 599-607.
- [31] Guo WJ, Keckesova Z, Donaher JL, et al. Slug and Sox9 cooperatively determine the mammary stem cell state. *Cell*, 2012, 148(5): 1015-1028.
- [32] Chandhoke AS, Chanda A, Karve K, et al. The PIAS3-Smurf2 sumoylation pathway suppresses breast cancer organoid invasiveness. *Oncotarget*, 2017, 8(13): 21001-21014.
- [33] Chanda A, Chan A, Deng LL, et al. Identification of the SUMO E3 ligase PIAS1 as a potential survival biomarker in breast cancer. *PLoS ONE*, 2017, 12(5): e0177639.
- [34] Cheung KJ, Gabrielson E, Werb Z, et al. Collective invasion in breast cancer requires a conserved basal epithelial program. *Cell*, 2013, 155(7): 1639-1651.
- [35] Diermeier SD, Chang KC, Freier SM, et al. Mammary tumor-associated RNAs impact tumor cell proliferation, invasion, and migration. *Cell Rep*, 2016, 17(1): 261-274.
- [36] Weeber F, Ooft SN, Dijkstra KK, et al. Tumor organoids as a pre-clinical cancer model for drug discovery. *Cell Chem Biol*, 2017, 24(9): 1092-1100.
- [37] Drost J, Van Boxtel R, Blokzijl F, et al. Use of CRISPR-modified human stem cell organoids to study the origin of mutational signatures in cancer. *Science*, 2017, 358(6360): 234-238.
- [38] Duarte AA, Gogola E, Sachs N, et al. BRCA-deficient mouse mammary tumor organoids to study cancer-drug resistance. *Nat Methods*, 2018, 15(2): 134-140.
- [39] Walsh AJ, Cook RS, Sanders ME, et al. Quantitative optical imaging of primary tumor organoid metabolism predicts drug response in breast cancer. *Cancer Res*, 2014, 74(18): 5184-5194.
- [40] Walsh AJ, Cook RS, Skala MC. Functional optical imaging of primary human tumor organoids: development of a personalized drug screen. *J Nucl Med*, 2017, 58(9): 1367-1372.
- [41] 李甜瑞, 赵瑞波, 张权, 等. 类器官及其应用的研究进展, 2019, 46(8): 737-750.
Li TR, Zhao RB, Zhang Q, et al. Research progress of organoid and its application. *Progress Biochem Bioph*, 2019, 46(8): 737-750 (in Chinese).
- [42] Qu Y, Han BC, Gao BW, et al. Differentiation of human induced pluripotent stem cells to mammary-like organoids. *Stem Cell Rep*, 2017, 8(2): 205-215.
- [43] Linnemann JR, Miura H, Meixner LK, et al. Quantification of regenerative potential in primary human mammary epithelial cells. *Development*, 2015, 142(18): 3239-3251.
- [44] Karthaus WR, Iaquinta PJ, Drost J, et al. Identification of multipotent luminal progenitor cells in human prostate organoid cultures. *Cell*, 2014, 159(1): 163-175.
- [45] Dijkstra KK, Cattaneo CM, Weeber F, et al. Generation of tumor-reactive T cells by co-culture of peripheral blood lymphocytes and tumor organoids. *Cell*, 2018, 174(6): 1586-1598.
- [46] Zhang Z, Christin JR, Wang CH, et al. Mammary-stem-cell-based somatic mouse models reveal breast cancer drivers causing cell fate dysregulation. *Cell Rep*, 2016, 16(12): 3146-3156.

(本文责编 陈宏宇)