

· 综 述 ·

# 肠芯片在宿主-微生物互作中的研究进展

李向阳<sup>1</sup>, 史鹏程<sup>1</sup>, 张乐<sup>1</sup>, 王慧<sup>2</sup>, 尤晓颜<sup>1,2\*</sup>, 赵国屏<sup>2,3,4,5\*</sup>

1 河南科技大学 食品与生物工程学院, 河南 洛阳 471023

2 中国科学院天津工业生物技术研究所, 天津 300308

3 中国科学院上海植物生理生态研究所, 上海 200032

4 中国科学院上海营养与健康研究所, 上海 200031

5 中国科学院深圳先进技术研究院, 广东 深圳 518055

李向阳, 史鹏程, 张乐, 王慧, 尤晓颜, 赵国屏. 肠芯片在宿主-微生物互作中的研究进展[J]. 生物工程学报, 2024, 40(9): 2916-2933.

LI Xiangyang, SHI Pengcheng, ZHANG Le, WANG Hui, YOU Xiaoyan, ZHAO Guoping. Advances of gut-on-a-chip for exploring host-microbe interactions[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2024, 40(9): 2916-2933.

**摘要:** 人体肠道是一个复杂的生态系统, 富含多样的微生物群落, 这些微生物群落在营养吸收、药物代谢和机体免疫等方面发挥着关键作用。随着微流控技术和器官芯片技术的不断发展, 肠芯片已经成为模拟宿主-微生物互作的有力工具。这些微型化的生物系统能够在体外模拟人体肠道的复杂生理环境, 为研究肠道微生物与宿主之间的相互作用提供了一个独特的平台。本文首先介绍了人体肠道的生理特点, 总结了微流控器官芯片集成多细胞组分、生物流体、氧气梯度、机械力学等微环境因素在体外重塑肠道微生理系统的优势, 阐述了衡量体外肠芯片构建成功与否的关键性能指标, 并综述了芯片上的肠-微生物互作模型在肠道微生态研究、疾病模拟和药物评价方面的研究进展, 最后讨论了其局限性和未来的发展趋势, 以期应用肠芯片深入研究肠道微生物与宿主的相互作用提供参考。

**关键词:** 肠道; 微流控; 肠芯片; 宿主-微生物互作; 病理生理学

资助项目: 天津市合成生物技术创新能力提升项目(TSBICIP-CXRC-008); 合成生物学海河实验室重大攻关项目(E2M9560201); 国家自然科学基金(32301210, 31200035); 中国博士后科学基金(2022M713330)

This work was supported by the Tianjin Synthetic Biotechnology Innovation Capacity Improvement Project (TSBICIP-CXRC-008), the Major Project of Haihe Laboratory of Synthetic Biology (E2M9560201), the National Natural Science Foundation of China (32301210, 31200035), and the China Postdoctoral Science Foundation (2022M713330).

\*Corresponding authors. E-mail: YOU Xiaoyan, xiaoyan@haust.edu.cn; ZHAO Guoping, gpzhao@sibs.as.cn

Received: 2024-02-25; Accepted: 2024-06-03; Published online: 2024-06-06

# Advances of gut-on-a-chip for exploring host-microbe interactions

LI Xiangyang<sup>1</sup>, SHI Pengcheng<sup>1</sup>, ZHANG Le<sup>1</sup>, WANG Hui<sup>2</sup>, YOU Xiaoyan<sup>1,2\*</sup>,  
ZHAO Guoping<sup>2,3,4,5\*</sup>

1 College of Food and Bioengineering, Henan University of Science and Technology, Luoyang 471023, Henan, China

2 Tianjin Institute of Industrial Biotechnology, Chinese Academy of Sciences, Tianjin 300308, China

3 Shanghai Institute of Plant Physiology and Ecology, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200032, China

4 Shanghai Institute of Nutrition and Health, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200031, China

5 Shenzhen Institute of Advanced Technology, Chinese Academy of Sciences, Shenzhen 518055, Guangdong, China

**Abstract:** The human gut is a complex ecosystem harboring rich microbes that play a key role in the nutrient absorption, drug metabolism, and immune responses. With the continuous development of microfluidics and organ-on-a-chip, gut-on-a-chip has become a powerful tool for modeling host-microbe interactions. The chip is able to mimic the complex physiological environment of the human gut *in vitro*, providing a unique platform for studying host-microbe interactions. Firstly, we introduce the physiological characteristics of the human gut. Secondly, we comprehensively summarize the advantages of the microfluidic chip *in vitro* recapitulating the intestinal system by integrating microenvironmental factors, such as complex cell components, dynamic fluids, oxygen gradients, and mechanical mechanics. Thirdly, we expound the key performance indicators for evaluating the construction performance of gut-on-a-chip. In addition, we review the progress of gut-on-a-chip models in the research on gut microecology, disease modeling, and drug evaluation. Finally, we highlight the challenges and prospects in the applications of the emerging technology. The above is summarized with a view to informing the application of gut-on-a-chip for in-depth studies of gut microbe-host interactions.

**Keywords:** gut; microfluidics; gut-on-a-chip; host-microbe interactions; pathophysiology

人体肠道中存在丰富的微生物群，参与肠道的消化与吸收，调节体内代谢和免疫反应，以维持肠道稳态。肠道菌群失衡会引发一系列肠道疾病，影响机体健康<sup>[1]</sup>。动物试验和传统二维(two dimensional, 2D)细胞培养在探究肠道-微生物互作的工作中作出了巨大贡献。然而，传统动物模型与人类之间存在物种及肠道微生物组成的差异，不能准确预测人类肠道生理反应，且难以直接根据动物宏基因组测序结果推测人体情况<sup>[2]</sup>。2D培养存在体外静态与体内动态环境、细胞类型和成熟度不匹配等缺陷，难以实现宿主-微生物长期共培养，很大程度上限制了人们对宿主-微生物相互作用的深入研究<sup>[3]</sup>，因此迫切需要在体外建立并发展人相关的肠道-微生物互作模型。近年来，迅速

发展的肠芯片为体外肠-微生物互作研究提供了全新的技术手段与研究平台。基于微加工技术创制的肠芯片主要分为膜基型和免膜型芯片<sup>[4]</sup>。在体内，肠道存在典型的厌氧-好氧界面，以保证肠道与共生微生物的长期存活和功能维持。受体内生理结构启发，肠芯片能够模拟类似体内的氧气梯度，并构建宿主-微生物的共生环境<sup>[5]</sup>。此外，肠芯片能够通过施加灌流和机械力来模拟生理流体剪切力和肠道蠕动<sup>[6]</sup>。因此，基于其高仿生和高集成的特点，微流控肠芯片在体外重塑人体肠道微生理系统具有显著优势。随着微流控技术的发展以及多学科技术的交叉融合，成像设备和生物传感器已被广泛用于肠道微生理系统的评估<sup>[7-8]</sup>。当前芯片的肠-微生物互作模型已广泛用于生物学

研究、疾病模拟和药物评价。本文综述了肠芯片在宿主-微生物互作中的研究进展。

## 1 器官芯片用于肠道微生理系统构建及性能评估

### 1.1 体内肠道生理特点

人体肠道主要负责营养吸收、药物代谢和机体免疫,这些功能与其独特的生理结构(如肠褶皱、绒毛、隐窝和黏液)密切相关<sup>[5,9]</sup>。肠褶皱的形成增加了肠道的表面积,提高了肠道的吸收效率<sup>[10]</sup>。黏液层位于肠道上皮表面,可防止上皮细胞与共生细菌和潜在病原体直接接触,能够平衡微生物群落、调节肠道健康<sup>[11]</sup>。肠上皮细胞的增殖和分化能够产生由邻近的绒毛、微绒毛与基底增生隐窝形成的隐窝-绒毛轴。其中,肠道干细胞位于隐窝处,沿着隐窝向上不断增殖,是肠细胞自我更新和修复的主要来源<sup>[12]</sup>。肠屏障是一个跨肠腔和血管腔的半通透膜,由紧密连接的肠上皮细胞构成。在体内,肠屏障的主要功能是吸收、代谢和运输营养物质,并将其从消化系统输送到血脉系统,从而转运到身体的各个部位。完整的肠屏障可以防止有害物质(如细菌和毒素)进入体内,保持机体健康<sup>[13]</sup>。此外,肠道由多种细胞(如肠上皮细胞、血管内皮细胞和免疫细胞等)和丰富的微生物群落共同维持肠道内稳态<sup>[14]</sup>。周期性蠕动是肠道的典型特征,由肠道平滑肌有节奏地收缩和舒张产生。独特的需氧-厌氧环境和动态流体也给微生物和肠道细胞长期生存提供了适宜的微环境<sup>[15]</sup>。

### 1.2 肠芯片构建

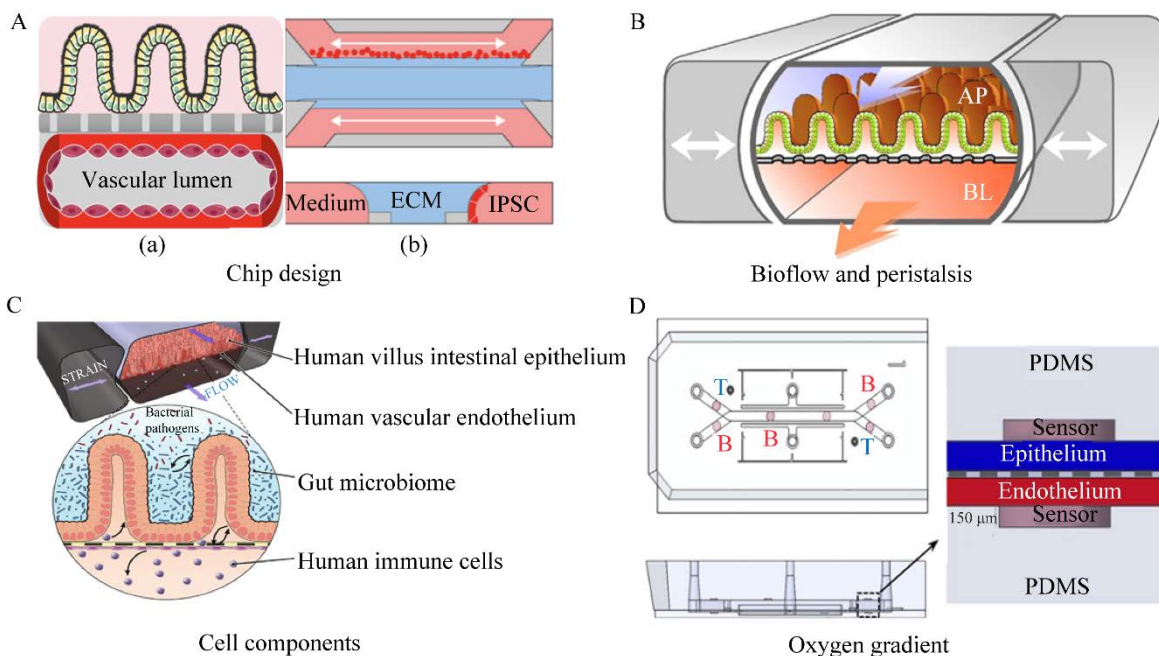
人体肠道是一个复杂的生态系统,其涵盖着丰富的细胞类型,能够感受相邻细胞和细胞微环境的作用。但传统的2D细胞培养模式及Transwell模型都难以充分还原体内肠道的生态位,无法实现器官特异性结构和功能的长期维持<sup>[16]</sup>。例如,

Transwell培养的肠上皮细胞通常需要21 d才能表现出分化的肠屏障功能与微生物共生维持时间小于24 h,肠道分泌功能也会受到限制<sup>[6,17]</sup>。肠芯片是将微工程技术和活体细胞相结合,通过在体外复刻肠道的关键功能来重现人体肠道生态系统的一门新兴技术,它强调多个因素如三维结构、机械应变、剪切应力、氧梯度及多种细胞等的高度集成,故高集成和高仿生是肠芯片的显著特点。膜基式肠芯片的设计灵感源于Transwell设计,这也是现在最常用的肠芯片类型<sup>[18]</sup>。如图1A(a)所示,膜基式芯片的主要特点是肠细胞和血管内皮细胞分别位于微流控芯片的上、下腔室,中间被涂有基质胶的基底膜隔开,以模拟肠屏障<sup>[19]</sup>。在此基础上,上、下腔室两侧设计的真空腔室可用于周期性拉伸和收缩运动,以实现类体内肠道周期性蠕动(图1B)。研究显示,这种组织特异性的机械运动可诱导三维(three dimensional, 3D)绒毛形态发生,并促进细胞分化为特定的肠细胞亚型(吸收性肠细胞、肠内分泌细胞、杯状细胞和潘氏细胞)<sup>[20]</sup>。与静态培养相比,蠕动有利于增殖细胞从基底隐窝迁移到绒毛顶端,形成顶端刷状边缘,此外,蠕动还能提高细胞色素P450的活性和黏液的分泌<sup>[14]</sup>。除了膜基设计,免膜的平面多通道设计是肠芯片的另一种形式。如图1A(b)所示,肠腔和血管腔被填充细胞外基质的通道分隔开<sup>[21]</sup>,这类芯片能方便地观察到微流控芯片中细胞的行为特征(如迁移、分化和增殖),芯片上灌流系统能有效模拟血液循环和肠道感应的剪切应力。研究显示,液体流动能加速肠上皮细胞分化、3D绒毛状结构的形成和黏液的分泌,并增强肠道屏障功能<sup>[22-23]</sup>。不同来源的肠细胞,如人结直肠腺癌细胞(Caco-2)、活检来源的肠组织和干细胞衍生的类器官等可以接种在微通道内<sup>[21,24-25]</sup>。更复杂的组分,如血管内皮细胞、免疫细胞、肠道微生物

等也可以根据需要纳入肠芯片中,从而实现更为仿生的肠道微环境构建<sup>[26]</sup>(图 1C)。

此外,肠道在生理状态下存在跨肠上皮氧梯度,维持着肠上皮与复杂菌群的稳定。体内小肠管腔中的氧气分压范围为 34–36 mmHg(约 5% O<sub>2</sub>)<sup>[27]</sup>。氧浓度的变化会影响肠道菌群的空间分布和肠道稳态,甚至引发疾病,如炎症性肠病、癌症等<sup>[28–29]</sup>。传统体外模型由于缺乏生理流体和氧梯度,极大限制了宿主和微生物的互作研究,研究人员可以采用向肠腔室和血管腔室通入不同浓度的氧气的方式,模拟生理氧气分布。Shin 等<sup>[30]</sup>将缺氧气体混合物(5% O<sub>2</sub>、5% H<sub>2</sub>和 90% N<sub>2</sub>)溶解在培养基中,在上、下腔分别引入缺氧和有氧培养基,以维持由厌氧、需氧以及兼性菌组成的微生物群与肠上皮细胞的共培养。在体内,氧浓度是由自主呼吸、对流和扩散产生的。受此启发,

Grant 等<sup>[27]</sup>采用了一种涂有不透气薄膜的肠芯片,以期通过有氧呼吸调节肠腔的氧气水平;计算机数据模拟和实验验证结果显示,肠上皮细胞在低氧环境下仍能维持屏障的完整,长达 72 h。与使用预混合气体相比,这种氧梯度的建立更具有生理学意义。此外,高效、灵敏的氧传感器能够以非侵入的方式原位集成在肠芯片中。Jalili-Firoozinezhad 等<sup>[31]</sup>将微米级氧传感器嵌入到肠腔和血管腔的上、下层,实时检测通道中的氧气水平,保证肠腔中氧气浓度低于 5% (图 1D),结果显示,人类肠道微生物组与肠上皮细胞共培养增强了肠屏障功能,并维持了更高水平的微生物多样性;其中包括来自 11 个不同属的 200 多个独特的操作分类单元和大量的专性厌氧菌,并且与人类粪便中观察到的比例类似<sup>[31]</sup>。简而言之,新兴肠芯片具有在体外重塑肠道微生理系统的潜力。



**图 1 肠芯片的构建** A: 膜基芯片和免膜芯片<sup>[19,21]</sup>. B: 探究流体和机械力对肠细胞的影响<sup>[20]</sup>. C: 芯片上集成多细胞组用于宿主-微生物研究<sup>[26]</sup>. D: 氧传感器监测氧水平<sup>[31]</sup>. ECM: 细胞外基质; IPSC: 诱导多能干细胞; PDMS: 聚二甲基硅氧烷; AP: 顶侧; BL: 基底侧。

Figure 1 Construction of the gut chips. A: Membrane-based and membrane-free chips<sup>[19,21]</sup>. B: Exploring the effects of fluid and mechanical forces on enterocytes<sup>[20]</sup>. C: Integration of multicellular components on a chip for host-microbe studies<sup>[26]</sup>. D: Oxygen sensor monitors oxygen levels<sup>[31]</sup>. ECM: Extracellular matrix; IPSC: Induced pluripotent stem cells; PDMS: Polydimethylsiloxane; AP: Apical side; BL: Basal side.

### 1.3 评价肠芯片构建成功的指标

肠芯片因其高仿生和高集成的优势,可模拟近生理的肠道微环境,重现肠的关键结构,并实现器官特异性功能。其中,极化的绒毛-隐窝结构和黏液分布是肠道的代表性形态学特征。其次,通过在芯片上测定与肠道屏障完整性相关的指标,能够对肠芯片的功能特征进行系统评估。

#### 1.3.1 形态特征

肠上皮细胞在流体和蠕动等微环境作用下,能够在体外自发形成与体内类似的绒毛-隐窝结构,重现肠道的生理功能。绒毛的形成成为肠上皮中不同亚型细胞及微生物群提供了适宜的生态位<sup>[32]</sup>。通常,绒毛和隐窝需借助高分辨率成像系统和分析设备进行表征。如图 2A(a)所示,研究人员借助共聚焦荧光显微镜和扫描电子显微镜,通过将细胞核、细胞骨架和肠绒毛原位共染色,清晰地观察到相邻绒毛之间的基底隐窝样结构和折叠形态<sup>[33]</sup>。覆盖在绒毛表面的黏液层可保护宿主免受致病菌的侵害。如图 2A(b)所示,肠芯片可以重现肠上皮细胞分化和黏液的积累,并产生与体内类似的黏液层厚度(约 500–600  $\mu\text{m}$ )<sup>[34]</sup>。肠黏液通常使用特定的荧光染料染色进行检测,Zhao 等<sup>[35]</sup>分别使用小麦胚芽凝集素和阿尔新兰染料染色,可视化黏液中的糖萼和酸性黏多糖等化合物的分布。除了生理模拟,肠芯片还能重现病理特征,例如肠道疾病的发生往往伴随着绒毛的破坏和隐窝结构的异常。此外,微生物的活性也能通过活/死细胞染色来评估。

#### 1.3.2 功能特征

准确评估肠屏障的完整性是衡量模型构建成功与否的重要内容。完整的肠屏障可以维持肠道稳态,并防止外来病原体入侵。通常,肠屏障的完整性由紧密连接蛋白、跨上皮电阻

(trans-epithelial electrical resistance, TEER)和通透性这 3 个指标进行评估。肠上皮细胞间的紧密连接是相邻肠上皮细胞间最重要的连接方式,也是肠道黏膜屏障调节的重要组成部分。其由相互作用的外周蛋白和跨膜蛋白形成,主要调控细胞通透性,调节细胞生长和细胞极性<sup>[36]</sup>。通过对免疫荧光染色的紧密连接蛋白和细胞核进行共聚焦显微镜观察可以看出,荧光染料标记的细胞核清晰可见,肠上皮高度表达的紧密连接蛋白(ZO-1 和 Occludin)均匀分布在细胞膜周边且边缘清晰,这表明细胞之间形成了紧密连接<sup>[37]</sup>(图 2B)。通常相邻细胞之间的紧密连接与跨上皮或内皮的电阻抗有关。因此,可以通过 TEER 值来反映跨细胞层的电阻,从而评估肠屏障的完整性。Henry 等<sup>[38]</sup>将电极集成到肠芯片中,实现快速、实时地监测单层细胞的完整性,并评估细胞的生长和分化(图 2C);结果显示,阻抗值随肠上皮单层的建立快速增加,在第 3 天达到(4 046 $\pm$ 210) $\Omega$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ 螯合剂处理会导致上皮细胞阻抗值迅速降低,提示肠上皮单层被破坏。通透性常通过衡量荧光示踪剂的扩散效率来评估,最常见的荧光示踪剂有葡聚糖(4–15 kDa)、荧光黄(0.45 kDa)和孔雀蓝(5.9 kDa)等。Trietsch 等<sup>[39]</sup>将不同分子量荧光标记的葡聚糖(40 kDa 和 4.4 kDa)作为荧光探针重悬到肠腔培养基中,通过测定血管腔荧光水平来量化肠屏障的通透性(图 2D)。在免膜设计的肠芯片中,研究人员可以观察到荧光染料随着时间的变化从肠腔侧跨过相邻凝胶通道进入检测通道。表 1 归纳了用于研究宿主-微生物相互作用的肠芯片的研究进展,涵盖了芯片设计、细胞类型、微生物种类、氧梯度、机械蠕动和流体流速等构建指标及主要研究成果。



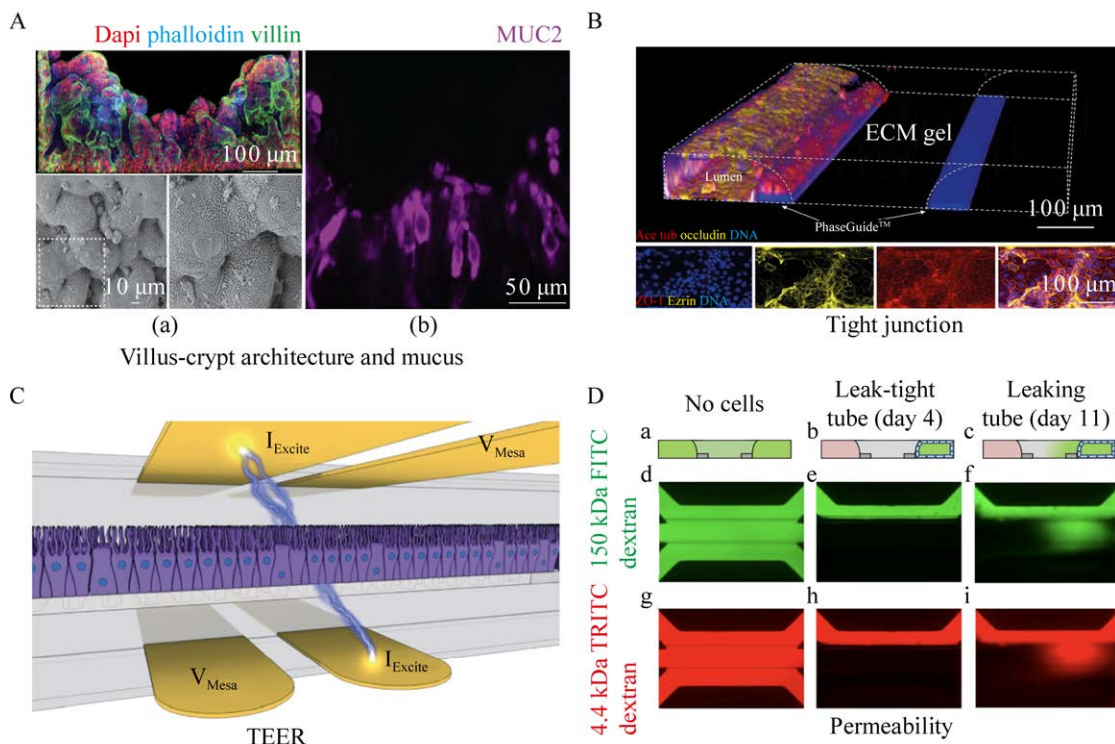


图2 模型构建的指标 A: 可视化绒毛-隐窝结构和黏液分布<sup>[33-34]</sup>. B: 紧密连接蛋白表达<sup>[37]</sup>. C: 跨膜电阻值测定<sup>[38]</sup>. D: 荧光示踪剂评估肠通透性<sup>[39]</sup>

Figure 2 Indicators of model construction. A: Visualization of villus-crypt structure and mucus distribution<sup>[33-34]</sup>. B: Tight junction protein expression<sup>[37]</sup>. C: Trans-epithelial electrical resistance measurement<sup>[38]</sup>. D: Fluorescent tracer assessment of intestinal permeability<sup>[39]</sup>.

## 2 应用研究

### 2.1 肠道微生态研究

在体内, 肠细胞、免疫细胞和微生物等共同维持着肠道稳态<sup>[48]</sup>。体外肠芯片能够集成生物、化学、物理等关键的微环境因素, 重塑类体内肠道生态位, 为人相关的宿主-微生物互作研究提供全新的技术平台。该技术不仅能够评估单一微环境因素对肠发育的影响, 而且还能探究多个微环境因素的协同作用。肠道上皮细胞感受着两种主要的物理因素变化, 即流动引起的剪切应力和由肌肉层收缩与拉伸引起的循环应变。Delon等<sup>[23]</sup>基于肠芯片研究了流体剪切力对Caco-2细胞表型和功能的影响。研究显示, 较高的剪切应力(0.026–0.030 dyne/cm<sup>2</sup>)可以促进肠绒毛的形

成、黏液的产生和细胞色素P450的表达, 中等剪切应力(0.012–0.026 dyne/cm<sup>2</sup>)能够增强紧密连接蛋白ZO-1和Occludin的表达<sup>[23]</sup>。Kim等<sup>[6]</sup>的研究结果揭示了在不改变肠屏障TEER值的情况下, 机械应变能改变细胞旁转运机制; 同时, 他们发现30 mL/h的流体可以增强氨肽酶的活性, 是静态培养时酶活性的9倍; 当流体和循环机械应变(10%应变, 0.15 Hz)同时作用时, 芯片上肠细胞的氨肽酶活性将进一步提高。跨上皮氧梯度的建立也为多种微生物与宿主长期共存及功能互作提供了更为仿生的微环境。Shin等<sup>[30]</sup>在不影响细胞活力的前提下, 实现了专性厌氧菌(青春双歧杆菌和霍氏真杆菌)与肠上皮细胞在微流控芯片上为期一周的共培养。肠芯片也可以用于观察微生物的黏附、入侵和增殖, 以

表 1 用于研究宿主与微生物相互作用的肠芯片实例  
Table 1 Examples of intestine-on-a-chip for studying host-microbe interactions

Construction parameters			Evaluation index				Main results			
Cell types	Co-cultured cells	Chip type	Co-cultured microbes	Oxygen gradient	Peristalsis	Bioflow	Junction proteins	TEER ( $\Omega \cdot \text{cm}^2$ )	Permeability	
Caco-2 cells <sup>[6,30-31,40]</sup>	HIMECs <sup>[31]</sup>	Membrane-based chip <sup>[1,7-8,10]</sup>	LGG <sup>[6,40]</sup> ; <i>Bifidobacterium</i> ; <i>adolescentis</i> <sup>[30,40]</sup> ; <i>Eubacterium hallii</i> <sup>[30]</sup> ; <i>Bacteroides fragilis</i> <sup>[31]</sup> ; <i>Clostridium difficile</i> <sup>[40]</sup> ; Microbiota from infant feces <sup>[31]</sup>	Premixed gas <sup>[30]</sup> ; Normoxic and deoxygenated medium <sup>[40]</sup>	10% strain, 0.15 Hz <sup>[6,30-31]</sup>	30 $\mu\text{L}/\text{h}$ <sup>[6]</sup> ; 50 $\mu\text{L}/\text{h}$ <sup>[30]</sup> ; 50 $\mu\text{L}/\text{min}$ <sup>[31]</sup>	Occludin <sup>[6]</sup> ; ZO-1 <sup>[30-31,40]</sup>	About 4 000 <sup>[6]</sup> ; about 7 000 <sup>[30]</sup> ; about 200 <sup>[40]</sup>	FITC-dextran (20 kDa) <sup>[6]</sup> ; Cascade blue <sup>[31]</sup> (5.9 kDa) <sup>[31]</sup>	1. Recapitulating <i>in vivo</i> -like ental factors, including fluid, peristalsis, oxygen gradient and commensal microbiome, etc. 2. Generating the epithelial monolayer, spontaneous intestinal folds and villi-like polarized structures
Caco-2 <sup>[41]</sup> cells; CD4 <sup>+</sup> T cells	CCD-18Co cells;	Membrane-based chip	LGG; <i>Bacteroides caecae</i>	Premixed gas	NA	NA	Occludin	about 1 000	NA	Reproducing the ability of transcription, metabolism and immune response <i>in vivo</i>
Caco-2 cells <sup>[33,42]</sup>	PBMCs <sup>[42]</sup> ; HMVECs <sup>[42]</sup>	Membrane-based chip <sup>[33,42]</sup>	VSL#3 <sup>[42]</sup> ; LGG <sup>[42]</sup> ; <i>Shigella flexneri</i> <sup>[33]</sup>	NA	10% strain, 0.15 Hz <sup>[33,42]</sup>	30 $\mu\text{L}/\text{h}$ <sup>[33,42]</sup>	E-cadherin <sup>[33]</sup>	about 3 500 <sup>[42]</sup>	FITC-dextran (70 kDa) <sup>[33]</sup>	Mechanical force contributes to bacterial overgrowth and inflammation

(待续)

(续表 1)

Construction parameters		Evaluation index				Main results				
Cell types	Co-cultured cells	Chip type	Co-cultured microbes	Oxygen gradient	Peristalsis	Bioflow	Junction proteins	TEER ( $\Omega \cdot \text{cm}^2$ )	Permeability	
Caco-2 cells <sup>[43-45]</sup>	PBMCS <sup>[43-45]</sup> ; HUVECs <sup>[44]</sup> ; hISEMFs <sup>[45]</sup> ; Primary macrophages <sup>[44]</sup>	Membrane-based chip <sup>[43-45]</sup>	<i>Lactobacillus rhamnosus</i> ATCC 7469 <sup>[45]</sup> ; VSL#3 <sup>[43]</sup> ; <i>Candida albicans</i> <sup>[44]</sup> ; <i>Bifidobacterium longum</i> <sup>[45]</sup>	Normoxic and deoxygenated medium <sup>[45]</sup>	10% strain, 0.15 Hz <sup>[43]</sup>	50 $\mu\text{L}/\text{h}$ <sup>[43]</sup> ; 25 $\mu\text{L}/\text{min}$ <sup>[44]</sup> ; 30 $\mu\text{L}/\text{min}$ <sup>[45]</sup>	Occludin <sup>[44]</sup> ; ZO-1 <sup>[43-45]</sup> ; E-cadherin <sup>[43-44]</sup> ; VE-cadherin <sup>[44]</sup> ; Claudin-1 <sup>[45]</sup>	about 2 000 <sup>[43]</sup> ; about 700 <sup>[45]</sup>	FITC-dextran (3-5, 20 kDa) <sup>[43-44]</sup>	Preplantation of beneficial microbes could inhibit inflammatory cytokine secretion and reduce pathogenic bacteria-induced intestinal damage
Caco-2 cells <sup>[9,35,46-47]</sup>	Primary macrophages <sup>[46]</sup> ; U937 cells <sup>[46]</sup> ; PBMCS <sup>[35]</sup>	Membrane-based chip <sup>[35,46-47]</sup> ; Membrane-free chip <sup>[9]</sup>	LGG <sup>[35]</sup> ; <i>Escherichia coli</i> <sup>[35,46]</sup> ; <i>Lactobacillus casei</i> <sup>[46]</sup> ; <i>Lactiplantibacillus plantarum</i> <sup>[9]</sup> ; <i>Bifidobacterium animalis</i> app. lactis <sup>[9]</sup> ; <i>Bifidobacterium bifidum</i> <sup>[47]</sup>	NA	10% strain, 0.15 Hz <sup>[35,46]</sup>	60 $\mu\text{L}/\text{h}$ <sup>[35,46]</sup> ; 21 $\mu\text{L}/\text{h}$ <sup>[9]</sup> ; 35 $\mu\text{L}/\text{h}$ <sup>[47]</sup>	ZO-1 <sup>[9,47]</sup>	about 59 <sup>[9]</sup> ; about 600 <sup>[47]</sup>	FITC-dextran (3-5, 10, 40, 70 kDa) <sup>[35,46-47]</sup>	Coculture of damaged epithelial layer with the probiotics could result in a substantial responded recovery of barrier function

PBMCS: Peripheral blood mononuclear cells; HIMECS: Human intestinal microvascular endothelial cells; HUVECs: Human umbilical vein endothelial cells; HMVECs: Human microvascular endothelial cells; ZO-1: Zonula occludens-1; LGG: *Lactobacillus rhamnosus* GG; FITC: Fluorescein isothiocyanate; VSL#3 (Combination probiotics, including the following: *Bifidobacterium breve*; *Bifidobacterium longum*; *Bifidobacterium infantis*; *Lactobacillus acidophilus*; *Lactobacillus plantarum*; *Lactobacillus paracasei*; *Lactobacillus bulgaricus*; *Streptococcus thermophilus*).

NA indicates that the specified has not been measured or reported.



及对肠屏障功能的影响。Kim 等<sup>[6]</sup>将肠上皮细胞和鼠李糖植物乳杆菌 (*Lactobacillus rhamnosus* GG, LGG) 共培养 96 h, 发现 LGG 紧密黏附在单层 Caco-2 细胞的表面, 且细胞密度明显高于静态培养(图 3A); TEER 值迅速升高, 也表明共生微生物的存在增强了肠上皮的完整性和肠屏障功能, 这些是传统 Transwell 体系难以比拟的。Grassart 等<sup>[33]</sup>发现蠕动运动能增强志贺氏菌的感染和侵袭能力, 导致屏障完整性丧失。隐窝样结构有利于志贺氏菌的早期黏附和定殖, 真实反映微生物在肠道的分布情况。此外, 人体是一个复杂的系统, 多个器官处于同一生理环境, 相互合作、相互影响。微流控芯片由于其独特的优势, 可以通过微通道的设计, 使得同一流体流经肠、肝、肾等多个器官, 实现多器官的功能偶联, 助力研究人员对人体生理学的系统性探究。如 Jeon 等<sup>[49]</sup>构建的肠-肝轴器官芯片能够很好地模拟肠道对脂肪酸的吸收以及肝脏中脂质的积累, 重现脂肪酸向脂蛋白的转化。

肠道不仅具有消化、吸收和分泌等功能, 同时也是人体最大的免疫器官。肠道菌群对宿主生理和病理具有重要影响, 特别是在物质代谢、免疫调节和肠道稳态方面。肠道微生物通过调节宿主代谢、产生维生素、转化胆汁酸和类固醇等方式对机体产生有益影响, 如膳食纤维经微生物消化后会在结肠近端发酵, 产生大量的短链脂肪酸(丁酸、乙酸和丙酸等)<sup>[50-51]</sup>, 这些脂肪酸可以为肠上皮细胞提供营养, 促进细胞增殖, 调节紧密连接蛋白表达, 刺激黏蛋白分泌等, 对维持肠屏障及机体稳态具有重要意义。这些脂肪酸还可以影响肠道 pH 值, 调节微生物生长, 例如, 短链脂肪酸的大量积累可降低肠道的 pH 值, 为益生菌的增殖和生长提供有利环境, 同时抑制致病菌(如沙门氏菌、李斯特菌、大肠杆菌和空肠弯曲菌等)的定殖, 从而保护肠道免受病原体感染<sup>[52]</sup>。Zhang 等<sup>[53]</sup>在肠芯片中研究了高氧敏感性细菌

普拉梭菌(*Faecalibacterium prausnitzii*)在结肠中的发酵, 研究发现, 基底侧含有大量的丁酸盐, 这表明丁酸盐经肠上皮吸收, 通过肠屏障转运到血管腔室。此外, 肠道微生物群还参与肠道免疫反应, 影响宿主免疫应答和机体健康<sup>[54]</sup>。Beaurivage 等<sup>[55]</sup>在芯片上建立了结肠类器官与巨噬细胞的共培养体系, 在脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)和  $\gamma$  干扰素(interferon gamma, IFN- $\gamma$ )干预下, 巨噬细胞被激活, 极化形成促炎性 M1 型巨噬细胞, 并分泌促炎因子, 导致肠屏障功能受损。De Gregorio 等<sup>[45]</sup>发现 LPS 诱导的炎症反应会引起肠屏障的刷状缘消失, 上皮细胞严重脱落; 然而, 当 LGG 和长双歧杆菌两种共生微生物预先定殖在肠上皮时, LPS 诱导的上皮屏障损伤会得到部分缓解, 并能够观察到肠腔和血管腔中抗炎细胞因子 IL-10 的大量分泌, 提示 LPS 刺激引起的免疫细胞募集可能是由微生物、上皮和炎症细胞因子介导的<sup>[45]</sup>。该研究也证实了微生物在保护绒毛结构和上皮细胞紧密连接、调节免疫功能以及预防肠道炎症的发生方面发挥了重要作用。正常的肠道真菌能诱导宿主在血液中产生针对多种潜在致病性真菌的抗体, 从而阻止致病性真菌感染引发的免疫反应, 被视为预防健康人群真菌感染的肠道疫苗。Maurer 等<sup>[44]</sup>通过将肠细胞、血管内皮细胞、外周血单核细胞和原代巨噬细胞集成在微流控芯片中, 在体外创建了具有生理免疫功能的微环境; 研究显示, 将 LGG 预定植在肠腔中, 能够降低肠腔中真菌的过度生长, 限制真菌穿过肠屏障, 从而防止致病性白色念珠菌的侵入。总之, 体外肠芯片模型对了解宿主与微生物间的相互作用提供了重要的研究手段, 同时为阐明人类肠道健康提供了方法。

## 2.2 疾病模拟

基于肠芯片的宿主-微生物的互作模型可用

于模拟肠道疾病的发生,解析发病机制,并探究潜在的治疗策略<sup>[56]</sup>。Lanik 等<sup>[57]</sup>建立了肠细胞、肠微血管内皮细胞和患者来源的微生物群的共培养体系,模拟新生儿坏死性小肠结肠炎,重现了关键的病理特征,包括促炎通路中炎症因子大量分泌、特异性上皮细胞群减少、上皮细胞增殖减少、肠道屏障通透性增加,以及细胞凋亡与坏死。这些结果表明,芯片上模拟的新生儿坏死性小肠结肠炎中促炎微环境与人类新生儿坏死性小肠结肠炎相当。值得注意的是,2019年年底以来,新型冠状病毒席卷全球,该病虽以呼吸道症状为主,但仍有20%–50%的患者具有明显的胃肠道症状,包括腹痛、腹泻、便血,甚至肠道穿孔等,这意味着肠道是新型冠状病毒攻击的另一个主要靶器官<sup>[58]</sup>。体外肠芯片为揭示严重急性呼吸综合征2型冠状病毒(severe acute respiratory syndrome coronavirus 2, SARS-Cov-2)对人体肠道的损伤提供了全新的研究平台。在芯片上SARS-Cov-2感染模型研究中(图3B),Guo等<sup>[58]</sup>发现SARS-Cov-2能引发肠道组织病变,包括肠绒毛受损、黏液分泌减少、紧密连接表达减弱,以及RNA和蛋白质代谢异常,揭示了SARS-Cov-2对肠屏障的破坏性。据报道,肠道中细菌的种类和数量可能导致免疫系统缺陷,加剧此类病毒感染进程<sup>[59]</sup>。Villenave等<sup>[60]</sup>发现人肠道病毒柯萨奇病毒B1可以进入肠上皮细胞,在细胞内复制,产生病变效应,肠腔侧也能检测到大量炎症细胞因子。此外,肠芯片还可以用来模拟辐射诱导的肠细胞死亡、绒毛钝化、黏液分泌受限、细胞间紧密连接破坏和肠屏障完整性损伤<sup>[19]</sup>。另一项研究显示,肠道菌群产生的色氨酸代谢物可以减轻辐射引起的DNA损伤<sup>[61]</sup>。

此外,肠-皮肤轴、肠-肝轴、肠-肝-脑轴等多器官轴已广泛用于模拟人体疾病,比如特异性皮炎、代谢性肝病和帕金森病等。其中, Lee

等<sup>[62]</sup>在肠道中添加游离脂肪酸会导致皮肤细胞的数量减少。当LPS和右旋糖酐硫酸酯钠(dextran sulfate sodium, DSS)同时存在时,肠上皮屏障受损,紧密连接表达减弱,皮肤对游离脂肪酸的摄取增加,LPS和DSS从肠腔向皮肤腔室的转运增强,从而引发银屑病皮肤炎症,伴随银屑病相关蛋白 $\beta$ -防御素表达增强。先前研究证实由膳食游离脂肪酸引起的促炎环境是炎性皮肤的关键因素<sup>[63]</sup>。Jeon等<sup>[49]</sup>在微流控芯片上重塑了人体肠道和肝脏之间的循环,并通过引入游离脂肪酸模拟非酒精性脂肪肝的发生;研究发现,游离脂肪酸处理1d后,细胞内DNA就开始受损;处理7d后,肠和肝脏均显示大量的脂滴堆积,DNA损伤加重,最终导致细胞死亡<sup>[49]</sup>。该病理特征类似于严重的非酒精性脂肪肝患者的临床病症。此外,这种脂肪堆积引起的肝脂肪变性常常与肠道稳态失调有关<sup>[64]</sup>。宿主和肠道微生物互作产生的代谢产物如乙酸,能够参与脂肪酸的生物合成,导致肝脏甘油三酯的积累,引发脂肪疾病。相反地,肝脏产生的胆汁酸可以调节肠道微生物组成,影响肠道稳态<sup>[64]</sup>。也就是说,微生物参与了肠-肝器官之间的交流,且这种交流是双向的。Trapecar等<sup>[65]</sup>在开发的肠-肝-脑微生理系统中观察到肠道微生物相关短链脂肪酸有助于大脑神经元以及胶质细胞的成熟,但当短链脂肪酸暴露于帕金森氏病患者的脑细胞时,会增加帕金森患者病理相关基因的表达,加剧帕金森氏病脑部病变,包括蛋白质错误折叠和神经元死亡。研究显示肠道菌群对大脑的病理作用可能是由微生物释放的可溶性神经递质、激素、免疫分子和神经活性代谢物引起的<sup>[66]</sup>。Raimondi等<sup>[67]</sup>提出了一个新的概念,即将微生物群、肠道、免疫系统、血脑屏障集成在器官芯片中,以期阐明肠道-微生物-神经系统之间

的关系(图 3C)。综上,肠芯片在了解疾病的发生机制和微生物在肠-器官轴生理病理的作用方面具有重要价值。

### 2.3 药物评价

人体是一个高度复杂的生态系统,研究人员很难在细胞水平上对特定器官功能进行直接研究<sup>[68]</sup>,且药物研发是一个漫长且耗资巨大的过程。传统 2D 细胞培养和动物模型难以真实反映人体微环境,因此很难重现人体中的药物响应状况<sup>[69]</sup>,而且即使药物在动物身上得到验证,在人体临床试验中也有高达 90%的失败率<sup>[70]</sup>。为提高药物发现的成功率并降低药物开发的成本,近几年,器官芯片作为一种替代动物模型的新范式,在药物测试中广为盛行<sup>[71]</sup>。器官芯片能复刻器官生理微系统,包含活体细胞、组织屏障、生物流体和机械力等器官微环境要素。它可以在体外模拟人体不同组织器官的主要结构特征和多个器官的关键功能,用于预测人体对药物或不同刺激作出的响应。因此,器官芯片在新药研发和个性化医疗领域具有较好的应用前景。在体内,肠道与肝脏、肾脏等器官一起影响着药物的吸收、分布、代谢和排泄,即药代动力学过程。其中,肠道微生物在该过程中也发挥了重要作用,它可以通过改变药物的化学结构来影响药物的活性和生物利用度,进而影响药物的疗效和安全性<sup>[72]</sup>。

目前,新兴肠芯片技术在药代动力学检测、药效评价及药物安全性评估方面显示出巨大的应用潜力,以期实现药物开发和个性化医疗的范式转变<sup>[73]</sup>。Milani 等<sup>[74]</sup>发现霉酚酸酯会在 Caco2 细胞代谢酶——羧基酯酶(carboxylesterases, CES)作用下,迅速水解为活性药物——霉酚酸,并在肠-肝轴中经葡萄糖醛酸化,代谢为霉酚酸葡萄糖苷酸。Herland 等<sup>[75]</sup>设计了肠-肝-肾多器官芯片,以建立人体药代动力学模型;将尼古丁

添加到肠腔模拟口服给药,药物经过肠壁,通过血脉系统,在肝脏代谢,最后排到肾脏;质谱分析显示,该药物的代谢途径及其作用与人体实际情况极为相似。Liu 等<sup>[76]</sup>在肠芯片中发现人参皂苷化合物 CK(ginsenoside CK)最多只有 20%被肠道屏障所吸收,在肝芯片中发现约 40%的人参皂苷 CK 可以被肝脏代谢。然而,在肠-血管-肝-肾多器官芯片平台中,人参皂苷 CK 的含量会沿着肠道、血管腔、肝脏和肾脏逐渐降低,分别为 70%、3.4%和 0%<sup>[76]</sup>。也就是说,大部分人参皂苷 CK 会停留在肠道,几乎无法通过血管腔到达肝脏和肾脏。在体内,人参皂苷 CK 主要依赖肠道微生物,通过  $\beta$ -糖苷酶代谢。因此,这种多器官平台能更真实地反映药物或化合物在人体分布的实际情况。

药物疗效评估也是肠芯片体系一个较为显著的应用场景。新兴肠芯片有望助力药物发现和药理机制探究。Carvalho 等<sup>[77]</sup>开发了 3D 微流控肿瘤细胞培养模型,吉西他滨给药 5 d 后,结直肠癌细胞中与细胞转移、凋亡和增殖的相关基因表达显著降低,提示药物具有良好的治疗效果。Mitxelena-Iribarren 等<sup>[78]</sup>发现肠屏障对胶囊化药物的吸收率明显高于对游离药物的吸收率,具有较高的生物利用度,并呈现出更好的抗癌效果。即胶囊化药物可在 6 h 内将癌细胞杀伤至 10%–20%,72 h 可彻底杀死癌细胞。Jie 等<sup>[79]</sup>在肠-肝轴芯片上研究了组合药物(金雀异黄素和达卡巴嗪)经肠摄取和转运后,在肝脏 I 期和 II 期的代谢行为;结果显示,当药物浓度低于 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  时,G0/G1 期 HepG2 细胞数量维持在 20%左右,G2/M 期细胞数量从 20%增加到 30%,S 期细胞数量保持在 50%–60%之间;然而,当药物浓度增加到 250 和 500  $\mu\text{g}/\text{mL}$  时,G0/G1 期细胞数量增加到 45%和 31%,G2/M 期细胞数量增加到 42%和 64%,S 期细胞数量会急剧下降到 15%以

下;离子色谱和质谱结果证实, HepG2 细胞可以在 P450 1A2 酶的作用下, 将达卡巴嗪代谢为 I 期代谢物[3-甲基-(三氮-1-基)咪唑-4-羧酰胺]和 II 期代谢物(金雀异黄素-7-O-硫酸盐)<sup>[79]</sup>。可见, 高浓度药物抑制了细胞生长和代谢能力, 促进了细胞凋亡, 这可能是由于 DNA 合成减少导致的。该工作对临床前药物的吸收、转运、代谢和药效研究具有重要指导意义。此外, 肠芯片技术在菌群相关疗法、益生菌和功能食品的开发方面也具有较高的应用价值。在 Jeon 等<sup>[9]</sup>的研究中(图 3D), 益生菌植物乳杆菌 HY7715 能抑制 LPS 导致的肠屏障 TEER 值下降和完整性破坏。VSL#3 预定殖能抑制大肠杆菌引起的绒毛损伤, 抑制炎

症细胞因子的累积, 促进杯状细胞再生和黏液分泌, 调节肠稳态<sup>[42-43]</sup>。Greenhalgh 等<sup>[80]</sup>基于 HuMix 肠芯片模型将来源于结直肠癌的肠上皮细胞与合生元(益生元和益生菌)共培养, 并将多组学分析结果和计算机代谢建模相结合。结果表明, 与单独益生元或益生菌治疗相比, 合生元能引起炎症驱动的结直肠癌相关信号通路和耐药基因的下调, 削弱癌细胞的自我更新能力, 并降低肿瘤代谢物乳酸的水平, 显示合生元在结直肠癌治疗中的巨大潜力<sup>[80]</sup>。

一直以来, 药物的安全性都是药物研发过程中必须考虑的重要因素。研究人员需要平衡药物功效与药物副作用, 开发有益于人体健康的创新

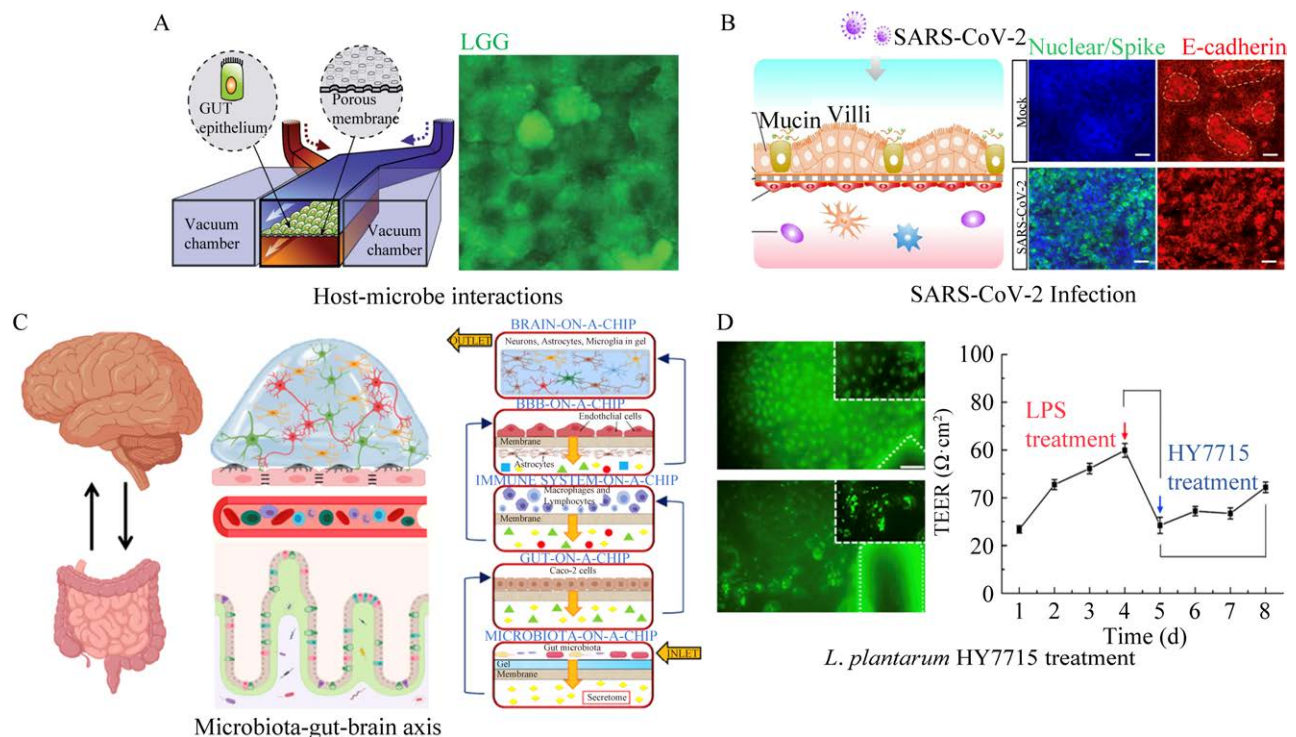


图 3 芯片上宿主-微生物互作的应用 A: 芯片上共培养肠细胞与益生菌<sup>[6]</sup>。B: 病毒感染模型<sup>[58]</sup>。比例尺: 50  $\mu\text{m}$ 。C: 微生物介导的肠-脑轴互作模型<sup>[67]</sup>。D: 益生菌改善 LPS 引起的肠道屏障损伤<sup>[9]</sup>。LGG: 鼠李糖乳杆菌 GG; LPS: 脂多糖

Figure 3 Applications of host-microbe interactions on microfluidic chips. A: Co-culture of enterocytes and probiotics on a chip<sup>[6]</sup>. B: Models of viral infection<sup>[58]</sup>. Scale bar: 50  $\mu\text{m}$ . C: A model of microbe-mediated gut-brain axis interactions<sup>[67]</sup>. D: Probiotics improve LPS-induced intestinal barrier damage<sup>[9]</sup>. LGG: *Lactobacillus rhamnosus* GG; LPS: Lipopolysaccharide.

药物。因此,对药物的安全性或任何潜在的副作用进行监测与评估具有重要意义。近年来,肠芯片已广泛用于药物安全性评价。其中, Xu 等<sup>[81]</sup>基于肠-血管-肝芯片发现游离的氟调聚醇能进入结肠细胞,到达线粒体内部,在细胞色素酶代谢下产生毒性更大的氟调聚羧酸和不饱和氟调聚酸,通过血液循环,最终进入肝细胞。由于聚调聚醇的生物累积,结肠屏障功能会因此受损,血管生成能力受限,肝细胞也会表现出氧化应激行为<sup>[81]</sup>。该过程有效地模拟了持久性有机污染物的毒性动力学特性及其在生物系统中的分布、积累与转化。此外,药物在肠道的吸收与药物肾毒性密切相关,药物肾毒性是临床中较为常见的副作用。Li 等<sup>[82]</sup>在肠-肾芯片上共培养 Caco-2 细胞和肾小球内皮细胞(glomerular endothelial cells, GECs),并使用地高辛与考来烯胺或维拉帕米联合用药,进行肠吸收相关的肾毒性试验。研究发现,考来烯胺和维拉帕米能显著影响地高辛在肠道中的吸收;芯片上结果显示,不同程度的药物联合会导致一定的肾毒性,包括细胞凋亡、细胞活力减弱和乳酸脱氢酶渗漏;其中,维拉帕米能增强地高辛诱导的肾毒性,而考来烯胺却能显著降低地高辛引发的药物肾毒性;该研究为多器官水平的药物毒性检测提供了可靠手段<sup>[82]</sup>。

### 3 结论与展望

开发和建立人相关的体外肠模型,以更真实地反映人体肠道-微生物生理和病理情况,是生命科学和生物医学领域的重大需求。传统动物模型存在动物和人种属及微生物组成差异,常规 2D 培养存在体外与体内动态环境、细胞类型和成熟度不匹配等局限,很大程度上限制了人们对宿主-微生物相互作用的深入剖析。肠芯片从工程学和发育生物学角度为体外重塑类生理 3D 肠道微生物系统提供了独特的研究平台,促进了人

相关的肠道-微生物交互研究,为解析肠道发育、疾病发生及药物治疗开辟了新途径。肠芯片通过在微流控通道中整合复杂的细胞组分、动态流体、蠕动等元件,重塑人体肠道微生理系统。跨肠上皮氧梯度的建立,实现了肠上皮与复杂人体肠道菌群的稳定共培养。目前,该技术已被广泛用于肠道生物学研究、疾病模拟和药物评价等方面。其中,疾病模型的建立重现了类似体内疾病的某些特征,揭示了宿主-微生物功能互作在保持肠道健康中的重要角色,促进了人们对疾病发生机制的探究,反映了人相关的药物响应,助力益生菌药物的开发。

新兴肠芯片技术促进了体外 3D 动态细胞培养模型的发展,增加了人们对宿主-微生物相互作用的理解。然而,肠芯片在探究宿主-微生物互作中也存在一些局限性,可以从方法的建立和体系的评价两方面加以改善。在方法建立方面,可以从增加仿生度和真实性的角度来提升其性能。首先,可以从健康或疾病患者的组织、粪便和血液中分别提取人类肠细胞、微生物和免疫细胞,来增加体外环境的仿真度<sup>[83]</sup>。多器官之间的相互作用也应考虑在内,以更真实地模拟体内药物经肠吸收、微生物代谢后对下游器官的影响。虽然目前已存在模块化肠-肝、肠-肾、肠-脑器官轴芯片<sup>[32]</sup>,在体外重现系统性涉及人体各个器官的生理系统是必然趋势,同时也面临着巨大挑战。其次,由于肠芯片的制作材料主要为聚二甲基硅氧烷(polydimethylsiloxane, PDMS),其固有的疏水性会导致 PDMS 非特异性吸附疏水小分子,从而影响药物的真实利用度和检测的准确性。这一缺陷可以通过对 PDMS 进行表面修饰<sup>[84]</sup>或开发可替代的生物材料(如水凝胶材料)加以克服。在体系评价方面,由于微流控芯片的高度集成性,多种生物传感器如电化学传感器和氧气传感器等已被原位集成在肠芯片中,实

时在线观测跨膜电阻值和氧气水平,以优化和评估肠屏障体系。基于此,酶传感器、微生物传感器和免疫传感器也应纳入肠芯片中,以检测肠特异性酶和标记物、微生物组成和代谢产物。此外,人工智能在菌群大数据挖掘方面具有很大的应用潜力,通过检测肠道菌群的组成和丰度,可以实现疾病的诊断和病情的预测,有助于改善疾病的发生进程<sup>[85]</sup>。总之,高仿生的建立策略和多维度的评价体系将赋能肠芯片在宿主-微生物中的互作研究。

## REFERENCES

- [1] PICKARD JM, ZENG MY, CARUSO R, NÚÑEZ G. Gut microbiota: role in pathogen colonization, immune responses, and inflammatory disease[J]. *Immunological Reviews*, 2017, 279(1): 70-89.
- [2] WANG H, YOU XY, ZHAO GP. Microbial volatile communication in human 3D intestinal organotypic models[J]. *Science Bulletin*, 2023, 68(13): 1353-1358.
- [3] XIANG X, WANG X, SHANG Y, DING Y. Microfluidic intestine-on-a-chip: current progress and further perspectives of probiotic-foodborne pathogen interactions[J]. *Trends in Food Science & Technology*, 2023, 134: 207-221.
- [4] LIANG D, SU WT, TAN MQ. Advances of microfluidic intestine-on-a-chip for analyzing anti-inflammation of food[J]. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2022, 62(16): 4418-4434.
- [5] PIMENTA J, RIBEIRO R, ALMEIDA R, COSTA PF, Da SILVA MA, PEREIRA B. Organ-on-chip approaches for intestinal 3D *in vitro* modeling[J]. *Cellular and Molecular Gastroenterology and Hepatology*, 2022, 13(2): 351-367.
- [6] KIM HJ, HUH D, HAMILTON G, INGBER DE. Human gut-on-a-chip inhabited by microbial flora that experiences intestinal peristalsis-like motions and flow[J]. *Lab on a Chip*, 2012, 12(12): 2165-2174.
- [7] CHEN HX, LUO ZQ, LIN X, ZHU YJ, ZHAO YJ. Sensors-integrated organ-on-a-chip for biomedical applications[J]. *Nano Research*, 2023: 16(7): 10072-10099.
- [8] HAN J, KANG U, MOON EY, YOO H, GWEON B. Imaging technologies for microfluidic biochips[J]. *BioChip Journal*, 2022, 16(3): 255-269.
- [9] JEON MS, CHOI YY, MO SJ, HA JH, LEE YS, LEE HU, PARK SD, SHIM JJ, LEE JL, CHUNG BG. Contributions of the microbiome to intestinal inflammation in a gut-on-a-chip[J]. *Nano Convergence*, 2022, 9(1): 8.
- [10] GUO YQ, LI ZY, SU WT, WANG L, ZHU YJ, QIN JH. A biomimetic human gut-on-a-chip for modeling drug metabolism in intestine[J]. *Artificial Organs*, 2018, 42(12): 1196-1205.
- [11] IZADIFAR Z, SONTHEIMER-PHELPS A, LUBAMBA BA, BAI HQ, FADEL C, STEJSKALOVA A, OZKAN A, DASGUPTA Q, BEIN A, JUNAID A, GULATI A, MAHAJAN G, KIM S, LoGRANDE NT, NAZIRIPOUR A, INGBER DE. Modeling mucus physiology and pathophysiology in human organs-on-chips[J]. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2022, 191: 114542.
- [12] XIANG JN, GUO JG, ZHANG SY, WU HG, CHEN YG, WANG JP, LI BJ, LIU HJ. A stromal lineage maintains crypt structure and villus homeostasis in the intestinal stem cell niche[J]. *BMC Biology*, 2023, 21(1): 169.
- [13] SANTILLI A, STEFANOPOULOS S, CRESCI GAM. The gut barrier and chronic diseases[J]. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*, 2022, 25(3): 178-185.
- [14] STEINWAY SN, SALEH J, KOO BK, DELACOUR D, KIM DH. Human microphysiological models of intestinal tissue and gut microbiome[J]. *Frontiers Bioengineering and Biotechnology*, 2020, 8: 725.
- [15] von MARTELS JZH, SADAGHIAN SADABAD M, BOURGONJE AR, BLOKZIIL T, DIJKSTRA G, FABER KN, HARMSSEN HJM. The role of gut microbiota in health and disease: *in vitro* modeling of host-microbe interactions at the aerobe-anaerobe interphase of the human gut[J]. *Anaerobe*, 2017, 44: 3-12.
- [16] XIANG YQ, WEN H, YU Y, LI MQ, FU XF, HUANG SQ. Gut-on-chip: Recreating human intestine *in vitro*[J]. *Journal of Tissue Engineering*, 2020, 11: 2041731420965318.
- [17] SHIN YC, THAN N, MIN S, SHIN W, KIM HJ. Modelling host-microbiome interactions in organ-on-a-chip platforms[J]. *Nature Reviews Bioengineering*, 2024, 2: 175-191.
- [18] KIMURA H, YAMAMOTO T, SAKAI H, SAKAI Y, FUJII T. An integrated microfluidic system for long-term perfusion culture and on-line monitoring of



- intestinal tissue models[J]. *Lab on a Chip*, 2008, 8(5): 741-746.
- [19] JALILI-FIROOZINEZHAD S, PRANTIL-BAUN R, JIANG A, POTLA R, MAMMOTO T, WEAVER JC, FERRANTE TC, KIM HJ, CABRAL JMS, LEVY O, INGBER DE. Modeling radiation injury-induced cell death and countermeasure drug responses in a human Gut-on-a-Chip[J]. *Cell Death & Disease*, 2018, 9: 223.
- [20] SHIN W, HINOJOSA CD, INGBER DE, KIM HJ. Human intestinal morphogenesis controlled by transepithelial morphogen gradient and flow-dependent physical cues in a microengineered gut-on-a-chip[J]. *iScience*, 2019, 15: 391-406.
- [21] NAUMOVSKA E, AALDERINK G, WONG VALENCIA C, KOSIM K, NICOLAS A, BROWN S, VULTO P, ERDMANN KS, KUREK D. Direct on-chip differentiation of intestinal tubules from induced pluripotent stem cells[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2020, 21(14): 4964.
- [22] FOIS CAM, SCHINDELER A, VALTCHEV P, DEGHANI F. Dynamic flow and shear stress as key parameters for intestinal cells morphology and polarization in an organ-on-a-chip model[J]. *Biomedical Microdevices*, 2021, 23(4): 55.
- [23] DELON LC, GUO ZB, OSZMIANA A, CHIEN CC, GIBSON R, PRESTIDGE C, THIERRY B. A systematic investigation of the effect of the fluid shear stress on Caco-2 cells towards the optimization of epithelial organ-on-chip models[J]. *Biomaterials*, 2019, 225: 119521.
- [24] KIM HJ, INGBER DE. Gut-on-a-Chip microenvironment induces human intestinal cells to undergo villus differentiation[J]. *Integrative Biology*, 2013, 5(9): 1130-1140.
- [25] KASENDRA M, TOVAGLIERI A, SONTHEIMER-PHELPS A, JALILI-FIROOZINEZHAD S, BEIN A, CHALKIADAKI A, SCHOLL W, ZHANG C, RICKNER H, RICHMOND CA, LI H, BREAU DT, INGBER DE. Development of a primary human Small Intestine-on-a-Chip using biopsy-derived organoids[J]. *Scientific Reports*, 2018, 8: 2871.
- [26] BEIN A, SHIN W, JALILI-FIROOZINEZHAD S, PARK MH, SONTHEIMER-PHELPS A, TOVAGLIERI A, CHALKIADAKI A, KIM HJ, INGBER DE. Microfluidic organ-on-a-chip models of human intestine[J]. *Cellular and Molecular Gastroenterology Hepatology*, 2018, 5(4): 659-668.
- [27] GRANT J, LEE E, ALMEIDA M, KIM S, LoGRANDE N, GOYAL G, SESAY AM, BREAU DT, PRANTIL-BAUN R, INGBER DE. Establishment of physiologically relevant oxygen gradients in microfluidic organ chips[J]. *Lab on a Chip*, 2022, 22(8): 1584-1593.
- [28] ZITVOGEL L, GALLUZZI L, VIAUD S, VÉTIZOU M, DAILLÈRE R, MERAD M, KROEMER G. Cancer and the gut microbiota: an unexpected link[J]. *Science Translational Medicine*, 2015, 7(271): 271ps1.
- [29] RIGOTTIER-GOIS L. Dysbiosis in inflammatory bowel diseases: the oxygen hypothesis[J]. *The ISME Journal*, 2013, 7(7): 1256-1261.
- [30] SHIN W, WU A, MASSIDDA MW, FOSTER C, THOMAS N, LEE DW, KOH H, JU Y, KIM J, KIM HJ. A robust longitudinal co-culture of obligate anaerobic gut microbiome with human intestinal epithelium in an anoxic-oxic interface-on-a-chip[J]. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 2019, 7: 13.
- [31] JALILI-FIROOZINEZHAD S, GAZZANIGA FS, CALAMARI EL, CAMACHO DM, FADEL CW, BEIN A, SWENOR B, NESTOR B, CRONCE MJ, TOVAGLIERI A, LEVY O, GREGORY KE, BREAU DT, CABRAL JMS, KASPER DL, NOVAK R, INGBER DE. A complex human gut microbiome cultured in an anaerobic intestine-on-a-chip[J]. *Nature Biomedical Engineering*, 2019, 3(7): 520-531.
- [32] WU L, AI YJ, XIE RX, XIONG JL, WANG Y, LIANG QL. Organoids/organs-on-a-chip: new frontiers of intestinal pathophysiological models[J]. *Lab on a Chip*, 2023, 23(5): 1192-1212.
- [33] GRASSART A, MALARDÉ V, GOBAA S, SARTORI-RUPP A, KERNS J, KARALIS K, MARTEYN B, SANSONETTI P, SAUVONNET N. Bioengineered human organ-on-chip reveals intestinal microenvironment and mechanical forces impacting *Shigella* infection[J]. *Cell Host & Microbe*, 2019, 26(3): 435-444.e4.
- [34] SONTHEIMER-PHELPS A, CHOU DB, TOVAGLIERI A, FERRANTE TC, DUCKWORTH T, FADEL C, FRISMAN V, SUTHERLAND AD, JALILI-FIROOZINEZHAD S, KASENDRA M, STAS E, WEAVER JC, RICHMOND CA, LEVY O, PRANTIL-BAUN R, BREAU DT, INGBER DE. Human colon-on-a-chip enables continuous *in vitro* analysis of colon mucus layer accumulation and physiology[J]. *Cellular and Molecular Gastroenterology and Hepatology*, 2020, 9(3): 507-526.

- [35] ZHAO W, YAO YH, ZHANG T, LU HJ, ZHANG XL, ZHAO LL, CHEN X, ZHU JH, SUI GD, ZHAO W. Primary exploration of host-microorganism interaction and enteritis treatment with an embedded membrane microfluidic chip of the human intestinal-vascular microsystem[J]. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 2022, 10: 1035647.
- [36] GROSCHWITZ KR, HOGAN SP. Intestinal barrier function: molecular regulation and disease pathogenesis[J]. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 2009, 124(1): 3-20.
- [37] GIJZEN L, MARESCOTTI D, RAINERI E, NICOLAS A, LANZ HL, GUERRERA D, van VUGHT R, JOORE J, VULTO P, PEITSCH MC, HOENG J, SASSO GL, KUREK D. An intestine-on-a-chip model of plug-and-play modularity to study inflammatory processes[J]. *SLAS Technology*, 2020, 25(6): 585-597.
- [38] HENRY OYF, VILLENAVE R, CRONCE MJ, LEINEWEBER WD, BENZ MA, INGBER DE. Organs-on-chips with integrated electrodes for trans-epithelial electrical resistance (TEER) measurements of human epithelial barrier function[J]. *Lab on a Chip*, 2017, 17(13): 2264-2271.
- [39] TRIETSCH SJ, NAUMOVSKA E, KUREK D, SETYAWATI MC, VORMANN MK, WILSCHUT KJ, LANZ HL, NICOLAS A, NG CP, JOORE J, KUSTERMAN S, ROTH A, HANKEMEIER T, MOISAN A, VULTO P. Membrane-free culture and real-time barrier integrity assessment of perfused intestinal epithelium tubes[J]. *Nature Communications*, 2017, 8: 262.
- [40] KIM R, ATTAYEK PJ, WANG YL, FURTADO KL, TAMAYO R, SIMS CE, ALLBRITTON NL. An *in vitro* intestinal platform with a self-sustaining oxygen gradient to study the human gut/microbiome interface[J]. *Biofabrication*, 2019, 12(1): 015006.
- [41] SHAH P, FRITZ JV, GLAAB E, DESAI MS, GREENHALGH K, FRACHET A, NIEGOWSKA M, ESTES M, JÄGER C, SEGUIN-DEVAUX C, ZENHAUSERN F, WILMES P. A microfluidics-based *in vitro* model of the gastrointestinal human-microbe interface[J]. *Nature Communications*, 2016, 7: 11535.
- [42] KIM HJ, LI H, COLLINS JJ, INGBER DE. Contributions of microbiome and mechanical deformation to intestinal bacterial overgrowth and inflammation in a human gut-on-a-chip[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2016, 113(1): E7-15.
- [43] SHIN W, KIM HJ. Intestinal barrier dysfunction orchestrates the onset of inflammatory host-microbiome cross-talk in a human gut inflammation-on-a-chip[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2018, 115(45): E10539-E10547.
- [44] MAURER M, GRESNIGT MS, LAST A, WOLLNY T, BERLINGHOF F, POSPICH R, CSERESNYES Z, MEDYUKHINA A, GRAF K, GRÖGER M, RAASCH M, SIWCZAK F, NIETZSCHE S, JACOBSEN ID, FIGGE MT, HUBE B, HUBER O, MOSIG AS. A three-dimensional immunocompetent intestine-on-chip model as *in vitro* platform for functional and microbial interaction studies[J]. *Biomaterials*, 2019, 220: 119396.
- [45] DE GREGORIO V, SGAMBATO C, URCIUOLO F, VECCHIONE R, NETTI PA, IMPARATO G. Immunoresponsive microbiota-gut-on-chip reproduces barrier dysfunction, stromal reshaping and probiotics translocation under inflammation[J]. *Biomaterials*, 2022, 286: 121573.
- [46] JING BL, WANG ZA, ZHANG C, DENG QF, WEI JH, LUO Y, ZHANG XL, LI JJ, DU YG. Establishment and application of peristaltic human gut-vessel microsystem for studying host-microbial interaction[J]. *Frontiers Bioengineering and Biotechnology*, 2020, 8: 272.
- [47] LIU J, LU RH, ZHENG XL, HOU WS, WU XY, ZHAO HZ, WANG GX, TIAN T. Establishment of a gut-on-a-chip device with controllable oxygen gradients to study the contribution of *Bifidobacterium bifidum* to inflammatory bowel disease[J]. *Biomaterials Science*, 2023, 11(7): 2504-2517.
- [48] BELKAID Y, HAND TW. Role of the microbiota in immunity and inflammation[J]. *Cell*, 2014, 157(1): 121-141.
- [49] JEON JW, LEE SH, KIM D, SUNG JH. *In vitro* hepatic steatosis model based on gut-liver-on-a-chip[J]. *Biotechnology Progress*, 2021, 37(3): e3121.
- [50] VALIEI A, AMINIAN-DEHKORDI J, MOFRAD MRK. Gut-on-a-chip models for dissecting the gut microbiology and physiology[J]. *APL Bioengineering*, 2023, 7(1): 011502.
- [51] MORRISON DJ, PRESTON T. Formation of short chain fatty acids by the gut microbiota and their impact on human metabolism[J]. *Gut Microbes*, 2016, 7(3): 189-200.
- [52] 刘洪涛. 肠道微生物与生命健康[M]. 北京: 电子工

- 业出版社, 2022.
- LIU HT. Intestinal microorganisms and life health[M]. Beijing: Publishing House of Electronics Industry, 2022 (in Chinese).
- [53] ZHANG JB, HUANG YJ, YOON JY, KEMMITT J, WRIGHT C, SCHNEIDER K, SPHABMIXAY P, HERNANDEZ-GORDILLO V, HOLCOMB SJ, BHUSHAN B, ROHATGI G, BENTON K, CARPENTER D, KESTER JC, ENG G, BREAU DT, YILMAZ O, TAKETANI M, VOIGT CA, CARRIER RL, TRUMPER DL, GRIFFITH LG. Primary human colonic mucosal barrier crosstalk with super oxygen-sensitive *Faecalibacterium prausnitzii* in continuous culture[J]. Med, 2021, 2(1): 74-98.e9.
- [54] FU YF, LYU J, WANG SS. The role of intestinal microbes on intestinal barrier function and host immunity from a metabolite perspective[J]. Frontiers in Immunology, 2023, 14: 1277102.
- [55] BEAURIVAGE C, KANAPECKAITE A, LOOMANS C, ERDMANN KS, STALLEN J, JANSSEN RAJ. Development of a human primary gut-on-a-chip to model inflammatory processes[J]. Scientific Reports, 2020, 10: 21475.
- [56] JUNG SM, KIM S. *In vitro* models of the small intestine for studying intestinal diseases[J]. Frontiers in Microbiology, 2022, 12: 767038.
- [57] LANIK WE, LUKE CJ, NOLAN LS, GONG QQ, FRAZER LC, RIMER JM, GALE SE, LUC R, BIDANI SS, SIBBALD CA, LEWIS AN, MIHI B, AGRAWAL P, GOREE M, MAESTAS M, HU E, PETERS DG, GOOD M. Microfluidic device facilitates *in vitro* modeling of human neonatal necrotizing enterocolitis-on-a-chip[J]. JCI Insight, 2023, 8(8): e146496.
- [58] GUO YQ, LUO RH, WANG YQ, DENG PW, SONG TZ, ZHANG M, WANG P, ZHANG X, CUI KL, TAO TT, LI ZY, CHEN WW, ZHENG YT, QIN JH. SARS-CoV-2 induced intestinal responses with a biomimetic human gut-on-chip[J]. Science Bulletin, 2021, 66(8): 783-793.
- [59] YEOH YK, ZUO T, LUI GCY, ZHANG F, LIU Q, LI AY, CHUNG AC, CHEUNG CP, TSO EY, FUNG KS, CHAN V, LING L, JOYNT G, HUI DSC, CHOW KM, NG SSS, LI TCM, NG RW, YIP TC, WONG GLH, CHAN FK, WONG CK, CHAN PK, NG SC. Gut microbiota composition reflects disease severity and dysfunctional immune responses in patients with COVID-19[J]. Gut, 2021, 70(4): 698-706.
- [60] VILLENAVE R, WALES SQ, HAMKINS-INDIK T, PAPAFRAGKOU E, WEAVER JC, FERRANTE TC, BAHINSKI A, ELKINS CA, KULKA M, INGBER DE. Human gut-on-A-chip supports polarized infection of Coxsackie B1 virus *in vitro*[J]. PLoS One, 2017, 12(2): e0169412.
- [61] GUO H, CHOU WC, LAI YJ, LIANG KX, TAM JW, BRICKEY WJ, CHEN L, MONTGOMERY ND, LI X, BOHANNON LM, SUNG AD, CHAO NJ, PELED JU, GOMES ALC, van den BRINK MRM, FRENCH MJ, MACINTYRE AN, SEMPOWSKI GD, TAN XM, SARTOR RB, LU K, TING JPY. Multi-omics analyses of radiation survivors identify radioprotective microbes and metabolites[J]. Science, 2020, 370(6516): eaay9097.
- [62] LEE HR, SUNG JH. Multiorgan-on-a-chip for realization of gut-skin axis[J]. Biotechnology and Bioengineering, 2022, 119(9): 2590-2601.
- [63] HERBERT D, FRANZ S, POPKOVA Y, ANDEREGG U, SCHILLER J, SCHWEDE K, LORZ A, SIMON JC, SAALBACH A. High-fat diet exacerbates early psoriatic skin inflammation independent of obesity: saturated fatty acids as key players[J]. Journal of Investigative Dermatology, 2018, 138(9): 1999-2009.
- [64] ANAND S, MANDE SS. Host-microbiome interactions: gut-Liver axis and its connection with other organs[J]. NPJ Biofilms and Microbiomes, 2022, 8: 89.
- [65] TRAPECAR M, WOGRAM E, SVOBODA D, COMMUNAL C, OMER A, LUNGJANGWA T, SPHABMIXAY P, VELAZQUEZ J, SCHNEIDER K, WRIGHT CW, MILDRUM S, HENDRICKS A, LEVINE S, MUFFAT J, LEE MJ, LAUFFENBURGER DA, TRUMPER D, JAENISCH R, GRIFFITH LG. Human physiometric model integrating microphysiological systems of the gut, liver, and brain for studies of neurodegenerative diseases[J]. Science Advances, 2021, 7(5): eabd1707.
- [66] RAIMONDI MT, ALBANI D, GIORDANO C. An organ-on-A-chip engineered platform to study the microbiota-gut-brain axis in neurodegeneration[J]. Trends in Molecular Medicine, 2019, 25(9): 737-740.
- [67] RAIMONDI I, IZZO L, TUNESI M, COMAR M, ALBANI D, GIORDANO C. Organ-on-A-chip *in vitro* models of the brain and the blood-brain barrier and their value to study the microbiota-gut-brain axis in neurodegeneration[J]. Frontiers Bioengineering and Biotechnology, 2020, 7: 435.

- [68] KIENINGER J, WELTIN A, FLAMM H, URBAN GA. Microsensor systems for cell metabolism-from 2D culture to organ-on-chip[J]. *Lab on a Chip*, 2018, 18(9): 1274-1291.
- [69] LOW LA, TAGLE DA. Tissue chips-innovative tools for drug development and disease modeling[J]. *Lab on a Chip*, 2017, 17(18): 3026-3036.
- [70] DICKSON M, GAGNON JP. Key factors in the rising cost of new drug discovery and development[J]. *Nature Reviews Drug Discovery*, 2004, 3: 417-429.
- [71] REARDON S. 'Organs-on-chips' go mainstream[J]. *Nature*, 2015, 523: 266.
- [72] WEERSMA RK, ZHERNAKOVA A, FU JY. Interaction between drugs and the gut microbiome[J]. *Gut*, 2020, 69(8): 1510-1519.
- [73] MA C, PENG YS, LI HT, CHEN WQ. Organ-on-a-chip: a new paradigm for drug development[J]. *Trends in Pharmacological Sciences*, 2021, 42(2): 119-133.
- [74] MILANI N, PARROTT N, ORTIZ FRANYUTI D, GODOY P, GALETIN A, GERTZ M, FOWLER S. Application of a gut-liver-on-a-chip device and mechanistic modelling to the quantitative *in vitro* pharmacokinetic study of mycophenolate mofetil[J]. *Lab on a Chip*, 2022, 22(15): 2853-2868.
- [75] HERLAND A, MAOZ BM, DAS D, SOMAYAJI MR, PRANTIL-BAUN R, NOVAK R, CRONCE M, HUFFSTATER T, JEANTY SSF, INGRAM M, CHALKIADAKI A, CHOU DB, MARQUEZ S, DELAHANTY A, JALILI-FIROOZINEZHAD S, MILTON Y, SONTHEIMER-PHELPS A, SWENOR B, LEVY O, PARKER KK, PRZEKWAAS A, INGBER DE. Quantitative prediction of human pharmacokinetic responses to drugs *via* fluidically coupled vascularized organ chips[J]. *Nature Biomedical Engineering*, 2020, 4: 421-436.
- [76] LIU DD, JIAO SM, WEI JH, ZHANG XB, PEI YX, PEI ZC, LI JJ, DU YG. Investigation of absorption, metabolism and toxicity of ginsenosides compound K based on human organ chips[J]. *International Journal of Pharmaceutics*, 2020, 587: 119669.
- [77] CARVALHO MR, BARATA D, TEIXEIRA LM, GISELBRECHT S, REIS RL, OLIVEIRA JM, TRUCKENMÜLLER R, HABIBOVIC P. Colorectal tumor-on-a-chip system: a 3D tool for precision onco-nanomedicine[J]. *Science Advances*, 2019, 5(5): eaaw1317.
- [78] MITXELENA-IRIBARREN O, OLAIZOLA C, ARANA S, MUJICA M. Versatile membrane-based microfluidic platform for *in vitro* drug diffusion testing mimicking *in vivo* environments[J]. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 2022, 39: 102462.
- [79] JIE MS, LIN HF, HE ZY, LIU HY, LI HF, LIN JM. An on-chip intestine-liver model for multiple drugs absorption and metabolism behavior simulation[J]. *Science China Chemistry*, 2018, 61(2): 236-242.
- [80] GREENHALGH K, RAMIRO-GARCIA J, HEINKEN A, ULLMANN P, BINTENER T, PACHECO MP, BAGINSKA J, SHAH P, FRACHET A, HALDER R, FRITZ JV, SAUTER T, THIELE I, HAAN S, LETELLIER E, WILMES P. Integrated *in vitro* and *in silico* modeling delineates the molecular effects of a synbiotic regimen on colorectal-cancer-derived cells[J]. *Cell Reports*, 2019, 27(5): 1621-1632.e9.
- [81] XU N, LIN HF, LIN JM, CHENG J, WANG PL, LIN L. Microfluidic chip-based modeling of three-dimensional intestine-vessel-liver interactions in fluorotelomer alcohol biotransformation[J]. *Analytical Chemistry*, 2023, 95(46): 17064-17072.
- [82] LI ZY, SU WT, ZHU YJ, TAO TT, LI D, PENG XJ, QIN JH. Drug absorption related nephrotoxicity assessment on an intestine-kidney chip[J]. *Biomicrofluidics*, 2017, 11(3): 034114.
- [83] THOMAS DP, ZHANG J, NGUYEN NT, TA HT. Microfluidic gut-on-a-chip: fundamentals and challenges[J]. *Biosensors*, 2023, 13(1): 136.
- [84] TOEPKE MW, BEEBE DJ. PDMS absorption of small molecules and consequences in microfluidic applications[J]. *Lab on a Chip*, 2006, 6(12): 1484-1486.
- [85] LI JT, CHEN J, BAI H, WANG HW, HAO SP, DING Y, PENG B, ZHANG J, LI L, HUANG W. An overview of organs-on-chips based on deep learning[J]. *Research*, 2022: 9869518.

(本文责编 郝丽芳)