

# 基于 3D 细胞水平的药物筛选模型

侯晓蓉, 郭倩, 杨佳佳, 单伟光

(浙江工业大学 药学院, 浙江 杭州 310014)

**摘要:** 药物筛选是新药研发过程中最为重要的阶段之一, 而选择合适的筛选模型可以有效缩短时间、降低成本和提高效率。进入 21 世纪以来, 药物筛选技术正朝着快速、高效的细胞水平筛选方面发展。以活细胞作为靶点的筛选模型, 具有与生理内环境接近、微型化和高通量化等优点。而 3D 细胞模型较 2D 细胞模型, 具有更接近机体环境的优势, 是目前正在高速发展的一项新技术。主要论述了几种疾病的 3D 细胞药物筛选模型及其近年来的应用, 为后续研究者们选择筛选模型提供参考。

**关键词:** 新药研发; 药物筛选; 3D 细胞模型

中图分类号: R917

文献标志码: A

文章编号: 1674-2214(2018)01-0052-06

DOI: 10.16774/j.cnki.issn.1674-2214.2018.01.011

## Advances in 3D cell-based drug screening model research

HOU Xiaorong, GUO Qian, YANG Jiajia, SHAN Weiguang

(College of Pharmacy, Zhejiang University of Technology, Hangzhou 310014, China)

**Abstract:** Drug screening is one of the most important stages in the process of new drug development. An appropriate screening model can effectively shorten time, reduce costs and improve efficiency. Since the 21st century, drug screening technology has been developed rapidly and efficiently in cell-level. The living cells were used as target, which has the advantage of real physiological environment miniaturization and high-throughput. Compared with the 2D cell model, the 3D cell model has the advantage of being closer to the organism environment. This review mainly discusses several different types of 3D cell models and their applications in recent years.

**Keywords:** new drug development; drug screening; 3D cell models

药物筛选是指利用适当的筛选方法和技术, 建立合适的筛选模型, 从可能作为药物使用的天然或合成化合物中得到高效的先导化合物, 对其进行药理及药效活性的检测, 评价某一化合物的药用前景的方法, 是新药研发中缩短时间、减少成本和降低风险的关键步骤<sup>[1-2]</sup>。虽然药物的吸收、分布和毒理等研究在过去 20 年里有了重大进展, 但根据生物技术创新组织(BIO)2016 年发布的报告显示, 过去 10 年间候选药物获得批准并投放市场的总体可能性仅为

10%左右<sup>[3]</sup>, 如此高的淘汰率使作为新药研发源头的筛选工作成为医药行业一个重要的亟需突破的瓶颈<sup>[4-5]</sup>。提高药物筛选的质量和降低费用在药物研发过程中至关重要<sup>[6]</sup>。过去的半个世纪, 药物筛选经历了从动物表型到分子再到细胞的过程。早期的整体动物筛选模型利用患病动物建模进行化合物的初筛、复筛和检验。通过表型直接观察目标化合物的作用情况, 不但过程复杂、耗资巨大, 而且存在病理部位和药物作用机制不明确等缺点。随着现代分子药

收稿日期: 2018-03-08

作者简介: 侯晓蓉(1979—), 女, 陕西西安人, 讲师, 硕士, 研究方向为药物分析, E-mail: hxrong@zjut.edu.cn. 通信作者: 单伟光教授,

E-mail: swg@zjut.edu.cn.

理学研究的不断深入,研究者们发现功能蛋白质、生物活性成分在调节生命活动方面所起的重要作用,为药物筛选提供了新的方法和机会.以分子配基作为受体靶点的分子水平药物筛选模型逐渐成为使用范围最广、技术最成熟的筛选方法之一.该方法使药物的作用靶点清晰,但仍存在规模小、效率低等不足之处.基于传统筛选方法的缺陷,并随着细胞生物学和基因工程等学科的发展,细胞水平药物筛选逐渐成熟.以细胞作为筛选靶标,不仅可以考察药物的作用效果,明确作用靶点,还可以通过细胞的增值、衰亡以及胞内外环境的变化特征得到药物在体内的转运<sup>[7]</sup>、保留<sup>[8-9]</sup>和代谢<sup>[10]</sup>等动力学参数<sup>[11]</sup>,具有微量、准确和稳定的特点,是目前使用较为成熟和广泛的一类方法.

传统的细胞筛选模型所利用的细胞通常是由病理部位细胞通过细胞培养等手段得到的单层细胞或单细胞的悬浮液,呈平面生长,缺乏细胞与细胞间、细胞与细胞外基质间的接触<sup>[12]</sup>,细胞所处的环境与实体微环境截然不同.同氨基酸的盘曲折叠形成不同构象的蛋白质功能不同一样,细胞的堆积方式不同,它的特性也不尽相同,通过普通的平面 2D 细胞筛选得到的结果不能非常准确地反应药物在人体内的作用效果.例如,多年来癌症药物的发现主要是基于它对癌细胞的杀伤能力和精确抑制癌细胞基因的能力,这些化合物在使肿瘤部分或完全消退的同时,会伴随着大量的细胞毒性累积<sup>[13]</sup>.而利用 2D 筛选模型得到的抗癌药物在杀灭病理细胞之后,积累的毒性可能会转而攻击周围的正常细胞.这使得大部分的抗癌药物后期都无法通过临床试验,浪费了大量的人力、物力与时间.所以,2D 细胞筛选模型已经无法满足人们的需要.随着组织工程学的发展,人们致力于开发能更好地代表体内生物学的 3D 培养技术培养肿瘤、心脏和肝脏等模型<sup>[14-15]</sup>,同时更趋向于大批量和小型化<sup>[3]</sup>.3D 细胞培养技术是将合适的载体与组织细胞在体外共培养,使细胞在特定的空间结构中生长、迁移和分化,形成组织特性,最大程度模拟组织生理作用及其周围内环境.下面介绍几种最常见的疾病的 3D 筛选模型.

## 1 不同疾病的 3D 细胞筛选模型

### 1.1 肿瘤药物的 3D 细胞筛选模型

多细胞癌症肿瘤球模型(MCTS)是 3D 培养技术最典型的模型之一.根据形态学和基因表达的变化表明:MCTS 是一个通过细胞之间的相互交联聚

合而成的以氧梯度、葡萄糖分布、乳酸积累、DNA 链断裂、ATP 分布和组织形态学扩散为特征的完整的无血管体外肿瘤生长病理模型<sup>[16-19]</sup>.MCTS 的优势之一在于既有癌变细胞,癌变细胞的周围也有正常细胞.当球状体细胞达到一种临界直径时,它们便开始形成外部延伸区域、内部静止区域以及中央坏死区域,这些模型可以清晰地模仿癌症细胞的各种特征.使用 MCTS 模型,研究者可以揭示癌症药物如何渗透到异质肿瘤的 3D 结构中,并且可以揭示药物如何与肿瘤附近环境发生作用.研究表明:当球状体直径为 400  $\mu\text{m}$  时对内核的增值、再生、耐药性最理想<sup>[3]</sup>.目前,最先进的 3D 分析技术可以用来评估肿瘤多细胞球体增殖和血管再生.Wang 等<sup>[20]</sup>建立了在壳聚糖/胶原/海藻酸纤维支架(CCA)上培养 MCF-7 细胞运用于抗癌药物筛选的 MCTS 模型,发现与 2D 培养相比,3D 培养的 MCF-7 细胞有更佳的耐药性和增值率,其新陈代谢也更接近体内的肿瘤细胞模式.

李丹丹等<sup>[21]</sup>研究发现:3D 培养条件下的细胞模型具有更好的糖原储存能力,更高的敏感性.与 2D 模型相比,3D 模型的药物代谢酶、转运体、核受体等的表达能力均有一定水平的提高.在 3D 培养条件下的细胞可更好地维持其极化状态,保持组织特有的功能<sup>[22-24]</sup>.Smalley 等<sup>[25]</sup>的研究表明:肿瘤细胞在 2D 与 3D 培养条件下 RNA 水平会出现数百个片段的差异.利用 3D 培养技术得到的模型可与 LC-MS、细胞芯片和免疫组化技术等检测手段相结合<sup>[26-27]</sup>,通过观察药物对细胞的病理作用和毒性,筛选特定化合物.牟朝丽<sup>[28]</sup>利用 PHC 多孔支架与结肠癌细胞共培养得到的细胞反应器与 LC-MS 联用,从朱砂七提取物中筛选出可与癌细胞特异性结合的马兜磷酸 A 和马兜磷酸 B,并从中药桃儿七中筛选出了 7 种与癌细胞特异性结合的活性产物.

肿瘤干细胞(CSCs)是存在于恶性肿瘤细胞中为数极少却具有无限增殖、分化并具有自我更新能力的肿瘤细胞,它通过自身功能维持肿瘤微环境的不断更新,并且具有较强的耐药性.而 3D 培养的 CSCs 球体可以在体外激发其基因表达、肿瘤异质性和耐药性等功能,赋予模拟 CSCs 在生理中的能力,这样特殊的功能使得 CSCs 成为非常合适用以检测化合物对其抑制作用的体外功能系统<sup>[29-31]</sup>.Subedi 等<sup>[9]</sup>利用多功能干细胞(iPS)诱导 CSCs,建立人工诱导型肿瘤干细胞(iCSCL)筛选平台,对 6 000 种化合物进行了大规模筛选.由 iPS 诱导的 CSCs 具有癌细胞的特征并且可以稳定繁殖,可以用于 CSCs

的药物筛选. 该研究从 6 000 种化合物中初步筛选出了 86 种对肿瘤可能有抑制效果的化合物, 发现线粒体代谢功能障碍对癌细胞的抑制有重要作用, 最终确定了青蒿琥酯可以通过诱导线粒体功能异常, 从而抑制 CSCs 的繁殖扩散. 除此之外, 研究者们还通过蛋白质印记分析了 *Sox2* 基因在单层肿瘤细胞和球状肿瘤细胞中的表达能力, 发现该基因在肿瘤球体中的表达明显高于在单层细胞中的表达. 并且, iCSC 球体肿瘤对 CSCs 抑制剂盐霉素也更加敏感, 表明 iCSC 球体肿瘤比单层肿瘤细胞更适合于评估 CSCs 抑制剂的功效和选择性.

### 1.2 心血管疾病的 3D 细胞筛选模型

3D 细胞筛选模型除了运用于肿瘤药物筛选外, 研究者们也在尝试建立心肌细胞模型来检测具有心脏毒性的化合物<sup>[32]</sup>. 自从多功能心肌干细胞出现以来已成功构建了多种形式的 3D 心脏模型. 心脏是人体内最重要的器官之一, 负责提供压力使血液携带氧气和营养物质流向人体的各个部位. 由于心肌细胞的再生能力低、自我修复力较差, 使得心血管类的疾病成为世界范围性的最主要的致死疾病之一<sup>[33]</sup>. 除了心脏本身的疾病外, 糖尿病及各种炎症治疗过程中各种药物的代谢副产物会随着血液流向心脏, 对心脏产生毒性. 这种情况在药物初步筛选过程中无法预估, 导致许多化合物最终无法成药. 现有的药物筛选平台中, 通常使用的小鼠模型在电生理特性、耐药性和抗毒性等方面与人类心脏存在种属差异<sup>[34]</sup>, 并且存在周期过长等缺点. 普通的高通量筛选等体外筛选方法与人体内环境在酸碱性、渗透压、化学组成等方面差异巨大, 导致筛选准确性较低. 基于体外筛选模型的缺陷, 人们研究并建立了体外心脏 3D 模型<sup>[32]</sup>. 模仿天然心肌的 3D 组织的构建需要合适的细胞来源与可以支撑细胞生存、延展, 并与宿主整合和血管化的生物材料<sup>[35]</sup>. 胚胎干细胞是从早期胚胎或原始性腺中分离出来的一类细胞, 具有体外培养无限增殖、自我更新和多向分化的特性. 这些特性使由人胚胎干细胞分化得到的心肌细胞 (hESC-CM) 成为再生医学和疾病模型非常重要且有前途的细胞来源<sup>[36]</sup>. 在心脏模型中嵌入的 hESC-CM 的收缩性和舒张性可以反映药物对心脏的作用<sup>[37]</sup>, 而诱导性多功能心肌干细胞 (hiPSC-CMs) 可诱导患者自身细胞形成 iPSCs, 具有潜在的疾病源特质, 因此非常适合作为药物筛选模型<sup>[38]</sup>. 在国内, 王慧玲等<sup>[39]</sup>已在 Atelocollagen 胶原支架上成功培养出了具有收缩功能的成年大鼠心肌细胞. Zhang<sup>[36]</sup>通过在胶原生物材料中包裹 hESC-CM 制造心肌纤维

建立 3D 心脏模型, 并发现在 3D 组织基质中添加 hESC-CM 和成纤维细胞可以促进心脏组织在结构上的成熟, 建立的 3D 模型可以用于体外心脏成熟研究. 在国际上, Serpooshan 等<sup>[40]</sup>利用法拉第波使 hiPSC-CMs 迅速聚合成预先设置的三维结构. 与天然心肌相比, 在相同的细胞密度下, 这些 hiPSC-CM 衍生的 3D 组织显示出更好的细胞存活力、代谢活性和细胞间连接力.

目前, 通过细胞培养和组织工程构建 3D 心脏模型的手段以趋于成熟, 也已经用于再生医学、器官移植和药物测试等多方面的研究, 相信不久以后, 用于筛选的 3D 心脏模型会成为心血管类疾病治疗药物的主要筛选方法.

### 1.3 药物毒性评价的 3D 细胞筛选模型

药物研发的过程中, 新药的毒性以及耐药性的评价是极其重要的一步. 药物毒性的检测一般是在体外细胞的药物敏感性实验中进行, 但单层细胞结构过于简单, 不能模拟药物所作用的实体三维空间结构, 导致研究结果与其在患者体内临床评估的药效存在很大的偏差, 造成体外培养细胞药物敏感性实验结果的临床参考意义受限, 无法真实反映体内病理生理结构及状态<sup>[41-43]</sup>. 因此学者们致力于开发 3D 药物毒性评价的筛选模型以弥补 2D 细胞模型的不足. 洪少馥<sup>[44]</sup>利用无血清悬浮培养法成功建立了人乳腺癌 MCF-7 和人鼻咽癌 5-8F 3D 肿瘤球模型, 并且分别检测了两种肿瘤球与其同一类型单层细胞在细胞耐药、周期、药物敏感性和乏氧基因等方面的差异, 结果显示形成肿瘤球后细胞的耐药性能增强, 并且 3D 立体结构赋予了 MCF-7 和 5-8F 肿瘤球与体内实体肿瘤非常相似的乏氧特征. 同时考察了超声辐照联合紫杉醇在肿瘤球模型上的细胞毒性效应, 证明了超声辐照在适宜条件下可辅助增强肿瘤球对紫杉醇的药物敏感性.

药物性肝损伤 (drug-induced liver injury, DILI) 作为引起急慢性肝损伤和爆发性肝衰竭的主要因素, 是影响新药安全的重要方面, 也是研发者在新药开发过程中必须检测的项目. 有研究表明: 在德国和法国, 由药物原因造成的肝损伤分别占肝病患者的 32% 和 40%. 许多药物临床失败、上市后撤回的主要原因之一就是 DILI, 这一点造成了资源与金钱的极大浪费, 所以尽可能早地检测出药物的肝毒性至关重要<sup>[45]</sup>. Tania 等<sup>[46]</sup>以聚二甲基硅氧烷 (PDMS) 为支架材料三维培养肝细胞, 并将其整合到特定的生物反应器中以改善细胞培养物的营养和气体供应, 通过产生的白蛋白和尿素来评估该模型的肝脏

特异性功能,并以对乙酰氨基酚来对其安全性评价能力进行验证. 结果发现:该模型的肝细胞彼此之间接触良好,在培养期间非常好地维持了培养物特异性酶功能,并且能够很好地用于临床前早期肝毒性的检测.

#### 1.4 3D 细胞模型的应用——芯片实验室

20 世纪末, Harrison 等<sup>[47]</sup>将毛细管电泳和样品注射系统集成到平面玻璃芯片上,首次提出以微机电加工技术为基础的“微型全分析系统”,即现在的芯片实验室. 芯片实验室,指将样品反应、制备、分离、检测等基本操作集成到一块芯片上,在微通道内对纳升甚至皮升量级的液体进行精确操作以完成不同的生物或化学反应过程,并对产物进行分析的技术<sup>[48]</sup>. 芯片实验室用于药物的评价和筛选,具有快速、准确、便捷和高通量的特点. Choucha 等<sup>[49]</sup>以 HepG2/C3a 细胞为研究对象,建立了肝癌模型的芯片实验室,并检测了癌细胞对氟他胺、羟基氟他胺的代谢应答,以探索前体药物的体外代谢过程和发挥抗肿瘤活性的二级代谢产物的毒理学特性. Choucha 的 HepG2/C3a 细胞模型将芯片实验室这一新技术与药代动力学、药物毒性检测等传统药物评价手段相结合,在新药研发领域表现出巨大的应用前景,并且为体外药物评价与筛选提供了新的平台.

除单纯的药物筛选外,芯片实验室还可用于组织与器官的仿生建立. Huh 等<sup>[50]</sup>从人的气孔和肺血管内皮同时提取细胞并置于膜的两侧培养,中间有培养介质通过,由此构建了一个仿生组织模仿肺泡-毛细血管界面. 然后通过组织两侧加装侧孔施以负压使整个结构可以模仿人呼吸一样舒张和收缩. 通过以上方法可以将两种或两种以上的组织放在一起,创造出类似于人工器官的可称为芯片实验室的仿生模型. 该模型具备了人工器官的基本特征,可以显示出与人体器官内相似的功能. 这样的仿生模型虽然不能直接代替人工器官用于器官移植,但基本适用于疾病诊断、药物合成与筛选等领域.

## 2 结 论

3D 细胞培养通过运用再造细胞外基质,能够模拟细胞在生物体内的生存环境,为细胞提供一个更加接近体内生存条件的微环境,同时又能弥补在体内或 2D 条件下不能更好地对药效进行观察的缺陷. 采用 3D 细胞作为药物筛选的模型,主要有以下几个优点:1) 与整体动物模型和组织器官模型相

比,细胞模型的建模周期短且过程较为简便,可有效缩短筛选时间,节省人力、物力;2) 避免了因种属不同导致的药物在代谢及毒性方面的差异,排除了生理屏障对药物吸收的影响<sup>[51]</sup>,从源头降低了新药在临床试验中失败的概率;3) 作用靶点明确,与高通量筛选、高内涵筛选等自动化的现代筛选手段结合,可以实现多靶点、多指标及多通道筛选,提高筛选效率;4) 细胞对外界环境变化反应灵敏,可以检测出复杂成分中极少量的目标化合物,具有微量化、高灵敏度等明显优势. 虽然细胞筛选模型相对于动物或组织筛选模型有许多优势,但也仍然存在很多需要解决的问题. 例如,由于细胞感知外界环境变化的能力,导致其对温度、酸碱性和湿度环境等要求非常高,很小的变化都有可能细胞的死亡或变异. 另外,3D 细胞模型仍处于发展状态,目前的技术还仅仅停留在建模水平,只有极少数的模型被证明可用于药物筛选. 与此同时,3D 细胞模型虽然解决了空间差异对药物活性的影响,但与 2D 细胞模型一样,无法筛选出不能穿过血脑屏障等人体防御系统的化合物. 此类化合物可以有效作用于细胞靶点,但是在人体中无法直达病理部位,在一定程度上限制了细胞筛选模型的发展. 对于如何克服细胞筛选模型的这些缺陷目前还有待研究,但相信随着 3D 细胞及相关技术的不断发展,这些问题都可以一一解决,3D 细胞模型会有更广阔的发展. 同时,也将会有更多种类的细胞用于不同筛选模型的构建.

#### 参考文献:

- [1] 刘翠,杨书程,李民,等. 药物筛选新技术及其应用进展[J]. 分析测试学报,2015,34(11):1324-1330.
- [2] 庞磊,马立东,孟宪生,等. 基于细胞水平药物筛选的微流控芯片系统研究进展[J]. 中国现代应用药学,2015,32(12):106-113.
- [3] HERNANDEZ R. Clinical development success rates examined in new bio report[R]. Tokyo: Biotechnology Innovation Organization, 2016.
- [4] TSAIOUN K, BOTTLAENDER, MANONDZO A, et al. AD-DME-avoiding drug development mistakes early: central nervous system drug discovery perspective [J]. BMC neurology, 2009, 9(S1):1-11.
- [5] TSAIOUN K, JACEWICZ M. De-risking drug discovery with ADDME-avoiding drug development mistakes early[J]. Alternatives to laboratory animals, 2009, 37:47-55.
- [6] KOLA I, LANDIS J. Can the pharmaceutical industry reduce attrition rates? [J]. Nature reviews drug discovery, 2004, 3(8):711-715.
- [7] 赵玲玲. 细胞坏死抑制剂筛选模型的制备及中药抑制剂的筛选[D]. 长春:东北师范大学,2015.

- [8] ZHAO Xinfeng, LI Qian, BIAN Liujiao, et al. Using immobilized G-protein coupled receptors to screen bioactive traditional Chinese medicine compounds with multiple targets[J]. *Journal of pharmaceutical & biomedical analysis*, 2012, 70(11):549-552.
- [9] SUBEDI A, FUTAMURA Y, NISHI M, et al. High-throughput screening identifies artesunate as selective inhibitor of cancer stemness; involvement of mitochondrial metabolism[J]. *Biochemical & biophysical research communications*, 2016, 477(4):737-742.
- [10] DU H C, LV N, WANG S S, et al. Rapid characterization of a novel taspine derivative-HMQ1611 binding to EGFR by a cell membrane chromatography method[J]. *Combinatorial chemistry & high throughput screening*, 2013, 16(4):324-329.
- [11] WANG Bochu, DENG Jia, GAO Yimeng, et al. The screening toolbox of bioactive substances from natural products: a review[J]. *Fitoterapia*, 2011, 82(8):1141-1151.
- [12] RAMAIAHGARI S C, BRAVER M W D, HERPERS B, et al. A 3D *in vitro* model of differentiated HepG2 cell spheroids with improved liver-like properties for repeated dose high-throughput toxicity studies[J]. *Archives of toxicology*, 2014, 88(5):1083-1095.
- [13] DOBBELSTEIN M, MOLL U. Targeting tumour-supportive cellular machineries in anticancer drug development. [J]. *Nature reviews drug discovery*, 2014, 13(3):179-196.
- [14] ROTH A, SINGER T. The application of 3D cell models to support drug safety assessment: opportunities & challenges[J]. *Advanced drug delivery reviews*, 2014, 69(70):179-189.
- [15] SCHYSCHKA L, SANCHEZ J J, WANG Z, et al. Hepatic 3D cultures but not 2D cultures preserve specific transporter activity for acetaminophen-induced hepatotoxicity [J]. *Archives of toxicology*, 2013, 87(8):1581-1593.
- [16] LABARBERA D V, REID B G, YOO B H. The multicellular tumor spheroid model for high-throughput cancer drug discovery[J]. *Expert opinion drug discovery*, 2012, 7(9):819-830.
- [17] HUANG Buwei, GAO Jianqing. Application of 3D cultured multicellular spheroid tumor models in tumor-targeted drug delivery system research[J]. *Journal of controlled release*, 2017, 270:246-286.
- [18] LOESSNER D, STOK K S, LUTOLF M P, et al. Bioengineered 3D platform to explore cell-ECM interactions and drug resistance of epithelial ovarian cancer cells[J]. *Biomaterials*, 2010, 31(32):8494-8506.
- [19] HIRSCHHAEUSER F, MENNE H, DITTFELD C, et al. Multicellular tumor spheroids: an underestimated tool is catching up again[J]. *Journal of biotechnology*, 2010, 148(1):3-15.
- [20] WANG Jianzheng, ZHU Yuxia, MA Hui chao, et al. Developing multi-cellular tumor spheroid model (MCTS) in the chitosan/collagen/alginate (CCA) fibrous scaffold for anticancer drug screening[J]. *Materials science & engineering C materials for biological applications*, 2016, 62:215-225.
- [21] 李丹丹, 汤响林, 谭洪玲, 等. 3D HepG2 细胞药物肝毒性评价模型的建立及其在药物安全性评价中的应用[J]. *中国中药杂志*, 2016, 41(7):157-161.
- [22] GUNNESS P, MUELLER D, SHEVCHENKO V, et al. 3D organotypic cultures of human HepaRG cells: a tool for *in vitro* toxicity studies [J]. *Toxicological sciences an official journal of the society of toxicology*, 2013, 133(1):67-78.
- [23] TAKAYAMA K, KAWABATA K, NAGAMOTO Y, et al. 3D spheroid culture of hESC/hiPSC-derived hepatocyte-like cells for drug toxicity testing[J]. *Biomaterials*, 2013, 34(7):1781-1789.
- [24] KOSTADINOVA R, BOESS F, APPLLEGATE D, et al. A long-term three dimensional liver co-culture system for improved prediction of clinically relevant drug-induced hepatotoxicity[J]. *Toxicology & applied pharmacology*, 2013, 268(1):1-16.
- [25] SMALLEY K S, LIONI M, HERLYN M. Life isn't flat: taking cancer biology to the next dimension[J]. *Vitro cellular & developmental biology animal*, 2006, 42(8/9):242-247.
- [26] ANDRIES V D M, VAN D B A. Organs-on-chips: breaking the *in vitro* impasse[J]. *Integrative biology*, 2012, 4(5):461-470.
- [27] NIERODE G J, PEREA B C, MCFARLAND S K, et al. High-throughput toxicity and phenotypic screening of 3D human neural progenitor cell cultures on a microarray chip platform[J]. *Stem cell reports*, 2016, 7(5):970-982.
- [28] 牟朝丽. 三维细胞反应器及其在中药活性成分筛选中的应用[D]. 西安: 陕西师范大学, 2012.
- [29] SANCHO P, BURGOS R E, TAVERA A, et al. MYC/PGC-1 $\alpha$  balance determines the metabolic phenotype and plasticity of pancreatic cancer stem cells[J]. *Cell metabolism*, 2015, 22(4):590-605.
- [30] PERSANO L, RAMPAZZO E, BASSO G, et al. Glioblastoma cancer stem cells: role of the microenvironment and therapeutic targeting[J]. *Biochemical pharmacology*, 2013, 85(5):612-622.
- [31] HUBERT C G, RIVERA M, SPANGLER L C, et al. A three-dimensional organoid culture system derived from human glioblastomas recapitulates the hypoxic gradients and cancer stem cell heterogeneity of tumors found *in vivo* [J]. *Cancer research*, 2016, 76(8):2465-2500.
- [32] KUROKAWA Y K, GEORGE S C. Tissue engineering the cardiac microenvironment: multicellular microphysiological systems for drug screening[J]. *Advanced drug delivery reviews*, 2016, 96:225-233.
- [33] ORGANIZATION W H. Global status report on noncommunicable diseases 2010[J]. *Women*, 2010, 47(26):2562-2563.
- [34] KAESE S, VERHEULE S. Cardiac electrophysiology in mice: a matter of size[J]. *Frontiers in physiology*, 2012, 3(3):345-364.
- [35] VUNJAK-NOVAKOVIC G, TANDON N, GODIER A, et al. Challenges in cardiac tissue engineering[J]. *Tissue engineering; part B reviews*, 2010, 16(2):169-187.
- [36] ZHANG W, KONG C W, TONG M H, et al. Maturation of

- human embryonic stem cell-derived cardiomyocytes (hESC-CMs) in 3D collagen matrix; effects of niche cell supplementation and mechanical stimulation[J]. *Acta biomaterialia*, 2017, 49:204-217.
- [37] SHAPIRA-SCHWEITZER K, HABIB M, GEPSTEIN L, et al. A photopolymerizable hydrogel for 3D culture of human embryonic stem cell-derived cardiomyocytes and rat neonatal cardiac cells[J]. *Journal of molecular & cellular cardiology*, 2009, 46(2):213-224.
- [38] JIANG Ning, ZHOU Wenxia, ZHANG Yongxiang. Induced pluripotent stem cells: powerful tools for the study of neurodegenerative diseases and clinical therapy[J]. *Journal of international pharmaceutical research*, 2016, 43(2):183-190.
- [39] 王慧玲,李琼,郭志坤,等. 胶原支架上体外三维培养成年大鼠心肌细胞[J]. *中国组织工程研究*, 2013, 17(16):2961-2967.
- [40] SERPOOSHAN V, CHEN P, WU H, et al. Bioacoustic-enabled patterning of human iPSC-derived cardiomyocytes into 3D cardiac tissue[J]. *Biomaterials*, 2017, 131:47-57.
- [41] CREE I A, GLAYSHER S, HARVEY A L. Efficacy of anti-cancer agents in cell lines versus human primary tumour tissue[J]. *Current opinion in pharmacology*, 2010, 10(4):375-379.
- [42] BRESLIN S, O'DRISCOLL L. Three-dimensional cell culture; the missing link in drug discovery[J]. *Drug discovery today*, 2013, 18(5/6):240-249.
- [43] EDMONDSON R, BROGLIE J J, ADCOCK A F, et al. Three-dimensional cell culture systems and their applications in drug discovery and cell-based biosensors[J]. *Assay & drug development technologies*, 2014, 12(4):207-218.
- [44] 洪少馥. 超声辐照联合紫杉醇对三维肿瘤球细胞毒性效果评价及其机制的研究[D]. 深圳:南方医科大学, 2015.
- [45] REUBEN A, KOCH D G, LEE W M. Drug-induced acute liver failure: results of a U. S. multicenter, prospective study[J]. *Hepatology*, 2010, 52(6):2065-2076.
- [46] TANIA M, HSU M N, SI N P, et al. Perfusion enhanced polydimethylsiloxane based scaffold cell culturing system for multi-well drug screening platform[J]. *Biotechnology progress*, 2014, 30(2):418-428.
- [47] HARRISON D J, MANZ A, FAN Z, et al. Capillary electrophoresis and sample injection systems integrated on a planar glass chip[J]. *Analytical chemistry*, 1992, 64(17):1926-1932.
- [48] YEO L Y, CHANGH, CHAN P P Y, et al. Microfluidic devices for bioapplications[J]. *Small*, 2011, 7(1):12-48.
- [49] CHOUCHA S L, BUNESCU A, NAUDOT M, et al. Metabolomics-on-a-chip of hepatotoxicity induced by anticancer drug flutamide and its active metabolite hydroxyflutamide using HepG2/C3a microfluidic biochips[J]. *Toxicological sciences*, 2013, 132(1):8-38.
- [50] HUH D, MATTHEWS B D, MAMMOTO A, et al. Reconstituting organ-level lung functions on a chip[J]. *Science*, 2010, 328(5986):1662-1668.
- [51] 鲁萌,周芳,刘嘉莉,等. 三维细胞模型在抗肿瘤药物早期药代动力学筛选中的应用进展[J]. *中国临床药理学与治疗学*, 2017, 22(3):342-349.

(责任编辑:朱小惠)

## (上接第 15 页)

- [29] ZHOU N, ZHU X S. Ionic liquids functionalized  $\beta$ -cyclodextrin polymer for separation/analysis of magnolol[J]. *Journal of pharmaceutical analysis*, 2014, 4(4):242-249.
- [30] IVANOVA-MITSEVA P. Selective separation of toluene from n-heptane via emulsion liquid membranes containing substituted cyclodextrins as carrier[J]. *Separation science & technology*, 2006, 41(16):3539-3552.
- [31] PACZKOWSKA M, MIZERA M, SZYMANOWSKA-POWALOWSKA D, et al.  $\beta$ -cyclodextrin complexation as an effective drug delivery system for meropenem[J]. *European journal of pharmaceutics & biopharmaceutics official journal of arbeitsgemeinschaft fur pharmazeutische verfahrenstechnik E V*, 2016, 99:24-34.
- [32] TOUIL S, TINGRY S, BOUCHTALLA S, et al. Selective pertraction of isomers using membranes having fixed cyclodextrin as molecular recognition sites[J]. *Desalination*, 2006, 193(1):291-298.
- [33] KOZLOWSKI C A, SLIWA W. The use of membranes with cyclodextrin units in separation processes; recent advances[J]. *Carbohydrate polymers*, 2008, 74(1):1-9.
- [34] MIYATA T, IWAMOTO T, URAGAMI T. Characteristics of permeation and separation for propanol isomers through poly(vinyl alcohol) membranes containing cyclodextrin[J]. *Journal of applied polymer science*, 2010, 51(12):2007-2014.
- [35] ZHANG W, CHEN M, DIAO G. Electrospinning  $\beta$ -cyclodextrin/poly(vinyl alcohol) nanofibrous membrane for molecular capture[J]. *Carbohydrate polymers*, 2011, 86(3):1410-1416.
- [36] YANG T, LIU C. SPEEK/sulfonated cyclodextrin blend membranes for direct methanol fuel cell [J]. *International journal of hydrogen energy*, 2011, 36(9):5666-5674.

(责任编辑:朱小惠)