

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2018.07.002

· 专家论坛 ·

类器官在肿瘤研究中的应用及展望

徐华炜, 湛先保(第二军医大学 长海医院 肿瘤科, 上海 200433)

[摘要] 过去几十年来在干细胞生物学领域取得的进步,使得一种新型的3D类细胞体外培养技术问世,因其有着类似原器官的空间形态结构,故而称其为类器官。将肿瘤组织用该技术体外培养所形成的肿瘤类器官,极大程度保留了肿瘤细胞在体内的生物特性,且兼具低成本和便于操作的优点,弥补了以往传统肿瘤实验模型的缺陷。该模型还可用于转化医学研究,可进行包括药敏试验在内的个体化医疗方案的制定,并且具有和多种技术相结合的应用前景。本文重点讨论类器官在肿瘤研究中的应用及其发展潜力。

[关键词] 类器官;肿瘤模型;药物筛选;个体化医疗;转化医学

[中图分类号] R730 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2018)07-0669-05

The application and perspectives of organoids in tumor research

XU Huawei, ZHAN Xianbao (Department of Oncology, Changhai Hospital Affiliated to Second Military Medical University, Shanghai 200433, China)

[Abstract] Over the last few decades progress in the field of stem cell biology makes a new kind of 3-D human cells *in vitro* culture techniques available, which is termed organoids because of its space structure similar to organs. Organoids derived from tumor tissues largely retained the biological characteristics of tumor tissue *in vivo*, and both the advantages of low cost and easy operation make up the defects of the previous conventional cancer models. Organoids can also be used for translational medical research, formulating individual therapeutic schedules including drug sensitive tests, and combining with many kinds of technologies. This article focus on the application and prospects of organoids in tumor research.

[Key words] organoid; tumor model; drug screening; individualized medicine; translational medicine

[Chin J Cancer Biother, 2018, 25(7): 669-673. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2018.07.002]



湛先保,男,博士、教授、主任医师、博士生导师,现任长海医院肿瘤科主任。兼任中华医学会肿瘤学专委会胃癌学组委员、中国临床肿瘤学会理事、海峡两岸医药卫生交流协会常务理事、上海市抗癌协会胃癌分子靶向与免疫治疗分会主任委员等。曾2次赴美留学。承担3项国家自然科学基金,主编和副

主编专著各1部,参与发表SCI论文30余篇,参与并荣获军队科技进步一等奖和二等奖各1项、国家科技进步二等奖2项、上海市科技进步一等奖1项,获上海市卫生系统银蛇奖,被评为总后勤部爱军精武标兵、上海市卫生系统先进工作者。

目前常用的肿瘤模型有单层细胞培养系统(patient-derived cancer cell lines, PDC)以及动物模型(patient-derived xenografts, PDX)。随着人们对肿瘤研究的逐渐深入,肿瘤的复杂性使得这些模型的弊端日益显露。单层细胞培养缺乏多样化的细胞类型、空间组织性和体内整体微环境,甚至对干细胞的培养会产生不利影响^[1]。动物模型虽然能在一定程度

上模拟体内的情形,且能反映各系统间的相互作用,但移植成功率低、培养周期长和成本高等缺点使其难以应用于临床。而过去几十年来在干细胞生物学领域方面取得的进步,使得一种新型的3-D细胞体外培养技术问世,因其有着类似器官的空间形态结构,故而称其为类器官。

2009年荷兰CLEVERS团队^[2]将小鼠肠段中分离出的隐窝细胞培养在含有EGF、Noggin和R-Spondin的三维matrigel中,形成类似于肠的微型结构,即隐窝-绒毛复合体。自此成功培养出3-D肠组织类器官模型以来,多种“迷你器官”得以建立^[3-5]。该技术被*Science*杂志评选为2013年科技发展的十大突破之一^[6]。2011

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(No.81672892)。Project supported by the National Science Foundation of China(No.81672892)

[作者简介] 徐华炜(1992-),男,硕士生,主要从事消化肿瘤精准治疗的研究, E-mail: DrHuaweiXu@163.com

[通信作者] 湛先保(ZHAN Xianbao, corresponding author),博士,教授,博士生导师,主要从事消化肿瘤的精准治疗和免疫治疗的研究, E-mail: zhanxianbao@126.com

年SATO等^[7]利用该技术在体外成功培养了肠道的腺瘤、化生的Barret上皮以及结肠癌组织,建立了来源于患者的肿瘤类器官(patient-derived organoids, PDO)。类器官技术被*Nature Method*杂志评为2017年

生命科学领域的年度技术(Method of the Year 2017)。经形态学、表型分析和组学分析等多方面验证表明,即使经多次传代,肿瘤类器官也能保留大多数原位肿瘤的生物特征(表1)。

表1 常见肿瘤模型比较

项目	PDC	PDX	PDO
优点	培养条件简单; 易于体外扩增	很大程度保留肿瘤异质性; 系统性	保真度高; 多次传代基因组稳定; 培养周期短; 低成本
缺点	培养过程中常丢失肿瘤异质性 以及其他在体内重要的特征	移植成功率低; 所需肿瘤样本大; 培养周期长; 成本高; 种属差异	易受取材干扰; 培养条件复杂; 缺乏肿瘤微环境

1 类器官的主要类型

1.1 正常组织来源的类器官

类器官用于生理状态下的研究,其材料可来源于多能干细胞(human pluripotent stem cells, hPSCs)或成体干细胞(somatic stem cells)。其中多能干细胞可来源于胚胎干细胞(embryonic stem cells, ESCs)和诱导多能干细胞(induced pluripotent stem cells, iPSCs),而成体干细胞则一般来源于手术取材后的组织样本的分离提纯^[8-10]。正常组织类器官除了应用于生理性的研究如胚胎发育等之外,也可应用于肿瘤研究,包括致癌危险因素的机制研究和基因编辑条件下肿瘤类器官的建立。

1.2 癌及癌前病变组织来源的类器官

肿瘤类器官又被称为“癌症替身”、“类肿瘤”等,主要是利用患者的肿瘤组织进行体外3-D培养用于模拟体内肿瘤组织的生物学特征。而癌前病变(如上皮内瘤变)来源的类器官则主要用于模拟肿瘤的发生发展以及分析肿瘤相关的组学改变。肿瘤类器官高度概括了来源肿瘤组织的特征,保留了个体之间的异质性,因而具有转化医学的应用价值,可用于功能性的测试如进行高通量的药物筛选,甚至个体化治疗方案的制定。

自2015年桑格研究所和霍布雷希特研究所联合建立了全球首个肿瘤类器官库(living organoid biobank of cancer)以来,现在已有多个不同类型的肿瘤类器官库得以建立^[11-13]。该生物样本库可以进行表型、组学等分析和药物筛选,并将这些数据进行整合,将有助于阐明与个体肿瘤的预后、治疗关联性。

表2 常见组织类器官的研究现状

组织类型	来源	首次报道时间	参考文献
结肠	正常组织	2009	[2]
	肿瘤	2011	[7]
脑	正常组织	2012	[5]
肺	正常组织	2014	[14]
胃	正常组织	2014	[15]
	肿瘤	2015	[16]
胃食管	肿瘤	2018	[17]
前列腺	正常组织	2014	[18]
	肿瘤	2014	[19]
胰腺	正常组织	2013	[20]
	肿瘤	2015	[21]
肝	正常组织	2013	[3]
	肿瘤	2017	[22]
乳腺	肿瘤	2017	[13]
膀胱	肿瘤	2018	[23]

2 类器官在肿瘤研究中的应用

2.1 肿瘤发生发展机制

肿瘤是一种多病因、多阶段的疾病,从发生发展到转移以及药物耐药,这是一个相互联系的过程,因此如何建立各个不同阶段的肿瘤模型对于研究其发生发展的机制是具有重要意义的。2014年,MCCRACKEN等^[15]利用诱导多能干细胞成功培养出含有胃窦组织的胃类器官,将幽门螺杆菌经显微注射到胃类器官的空腔中,以模拟幽门螺杆菌感染的过程,观察并验证了幽门螺杆菌的毒力因子CagA通过与c-Met受体结合,

激活相关信号通路,引起上皮细胞的增殖;同时,该幽门螺杆菌感染的类器官模型中的分化细胞诱导和促进了炎症反应,这一过程很可能在幽门螺杆菌导致胃癌的发生中起到了桥梁的作用。2014年,BOJ等^[21]利用小鼠的上皮内瘤变胰腺组织进行体外培养,再将这些类器官移植回小鼠体内,则能完全模拟出胰腺癌侵袭进展的过程。

2.2 肿瘤与干细胞

干细胞严密的调控机制对于组织器官功能的维持以及防止肿瘤的形成有着重要意义,而干细胞的异常增殖则可能是肿瘤形成的关键事件^[24-25]。WETERING等^[12]在建立结肠癌类器官的模型时发现,在最优培养条件下(Wnt、R-spondin和Noggin),正常组织的生长往往会超过肿瘤组织的生长,其原因可能是基因组的不稳定性导致了肿瘤细胞的凋亡。因为超过90%的大肠癌均有Wnt信号通路的异常激活,因此在原培养条件下减去Wnt信号的添加,则可以选择性地扩增肿瘤类器官。这一现象表明,正常组织干细胞巢中的生长因子环境与肿瘤所需的生长因子环境有着明显的差异性。BROUTIER等^[22]在培养肝癌类器官时发现另一个有趣的现象,低分化肝癌来源的类器官有着近乎100%的成功率,但高分化肝癌则无一例培养成功。这可能表明,低分化肿瘤有着更强的干性,而肿瘤类器官的培养依赖于肿瘤干细胞的干性。

2.3 个性化药物筛选与个体化医疗

肿瘤所具有的高度异质性是肿瘤研究和治疗的瓶颈,这也是提倡肿瘤个体化医疗的原因之一。这种异质性不仅体现在不同的患者个体之间,同一患者原发灶与转移灶之间以及不同转移灶之间,甚至同一病灶的不同肿瘤部位和/或不同时间上都可能具有明显差异性^[26]。传统的肿瘤细胞系由于培养条件简单,易于体外扩增,常用于大规模药筛,但在培养的过程中常丢失肿瘤异质性以及其他在体内重要的特征^[27]。而动物模型由于移植成功率低、培养周期长以及成本高使得难以大规模用于个体化的药物筛选。

肿瘤类器官的出现很好地解决了上述问题。2015年,WETERING等^[12]首次构建了具有22株结肠癌类器官的生物样本库,开创了用肿瘤类器官进行高通量药物筛选的方法,并提出以肿瘤类器官的体外药敏试验来指导个体化治疗设计的概念。同年,HUANG等^[28]首次将胰腺癌类器官用于药物测试,验证了肿瘤类器官作为个性化药物测试这一平台的可行性,该实验还测试了两种用于治疗胰腺癌的新药,结果显示胰腺癌类器官对其中一种名为NNC1999的新型EZH2抑制剂敏感。2018年,VLACHOGIANNIS等^[17]利用参加4项I/II期临床试验的71名转移性结肠癌和胃食管癌患者建立了类

器官库,从中取19组肿瘤类器官进行药敏试验,并与其对应的临床试验进行对比。分析结果显示,肿瘤类器官药敏试验有着100%的敏感性、93%的特异性、88%的阳性预测值和100%的阴性预测值。

3 类器官在肿瘤研究中的前景

类器官模型在肿瘤研究中有着独特的优势:(1)高度保留原位肿瘤组织的生物学特征和异质性;(2)多次传代后依然能保持基因组稳定性;(3)培养周期短;(4)成本低。基于这些优点,类器官可能在以下领域发挥重要作用。

3.1 联合液体活检

液体活检是近几年新兴的生物技术,该技术以非侵入性为主要特点,致力于肿瘤的早期诊断以及突变基因的监测。液体活检技术有着多种优点,但该技术尚处于初级阶段^[29],而且在敏感性上不及手术活检。而肿瘤类器官材料主要来源于手术活检(包括内镜活检等),囊括了原组织样本的特征,不仅可用于对肿瘤组织样本进行扩增,还可以减少基因测序时的背景干扰,起到“放大作用”^[13]。对于多发肿瘤以及转移灶,可以多次活检,建立多个肿瘤类器官。2014年,GAO等^[19]利用来源于转移性前列腺癌患者的活组织样本成功培育出7个前列腺癌类器官,其中一个类器官来源于患者的循环肿瘤细胞,这使得针对CTC的药物研发成为可能。即使多点活检,肿瘤内部的异质性仍是手术活检难以克服的问题之一,尤其是对于高度异质性的肿瘤,而液体活检恰好能弥补这一缺陷,提供一个较为全面的基因突变全貌。因此,液体活检与肿瘤类器官的结合将有助于实现更全面、准确地诊断肿瘤,这对于异质性难题的攻克无疑提供了一个很好的方向。

3.2 应用于CAR-T为代表的免疫疗法

2013年*Science*杂志将免疫疗法评为年度十大科学突破之首。CAR-T疗法在血液系统肿瘤中显示出令人振奋的疗效之后,人们尝试将该疗法用于实体瘤中,但其效果与预想相去甚远。这很可能是因为实体瘤有着更为复杂的微环境,CAR-T细胞难以浸润和定植于实体瘤内部。肿瘤微环境对CAR-T细胞抑制作用以及其持久性都是亟待解决的问题。

2010年,靶向ERBB2的CAR-T细胞疗法引发了患者致命性的呼吸窘迫导致死亡^[30]。这一案例使人们对CAR-T细胞疗法的毒性有着更加深入的认识,同时也意识到当前临床试验中的不足与构建相关临床前模型的必要性^[31]。此外,该疗法是一种依赖靶点的治疗方法,因此寻找肿瘤特异性的抗原尤其是膜抗原对于提高疗效和降低脱靶毒性至关重要。利用肿瘤类器官进行肿瘤特异性抗原的寻找以及突破肿瘤免疫抑制性微环境

的探索,或是将类器官作为一种疗效预测的工具,这对于免疫疗法有着潜在的应用前景。

3.3 应用于微生物菌群和肿瘤关系的研究

随着培养技术的改进和研究的深入,近年来的研究表明肠道菌群与人体健康有着密切的关系。微生物可成为肿瘤的致癌因素,除幽门螺杆菌可引起胃癌之外,最近的两项研究^[32-33]表明,肠道的某些菌群可引发或促进结直肠癌。菌群对于癌症的治疗也有着很重要的影响,通过补充某种特定的菌群甚至能提高PD-1抑制剂的疗效^[34]。向肿瘤类器官中引入菌群,可用于探索菌群对化疗、免疫疗法等抗肿瘤疗法的影响,从而指导在肿瘤治疗中,通过消灭或抑制某些“不利”的菌群或服用某些“有利的”菌种,以提高治疗的效果。

3.4 应用于肿瘤干性的研究

肿瘤干细胞与肿瘤的发生、侵袭、转移、耐药和复发等有着极为密切的关系^[35]。ZHENG等^[36]通过对肝癌不同细胞亚群进行单细胞基因组测序发现,肿瘤干细胞的异质性可引起肿瘤的异质性,因此肿瘤类器官对于肿瘤干性的研究是一个有力的工具。寻找肿瘤干细胞的靶点,以研发针对性的靶向药物等,可望成为治疗肿瘤的有效手段。

4 结 语

当然,类器官培养技术仍不够完善,还有许多亟待解决的问题。一方面,类器官仍不具备人体内的肿瘤微环境,它缺少人体组织中必要的成分,如脉管系统和免疫系统;另一方面,肿瘤类器官培养技术复杂,不同肿瘤甚至不同亚型需要不同的培养条件,更合理的培养基配方仍需进一步研究。最近,FONG等^[37]用多孔水凝胶替代以往的基质胶建立“海绵系统”,以此为基础建立的肝癌类器官能保持来源组织特征,这为肿瘤类器官技术的发展提供了新的思路。

建立肿瘤类器官生物样本库(biobank),以“共临床研究”(co-clinical study)评估肿瘤类器官作为临床前模型在体外药敏试验方面的价值,并用于抗肿瘤新药的研发和临床上指导个性化治疗方案的制定,这是实现肿瘤个体化医疗的可行之路^[38]。

[参 考 文 献]

- [1] LEE S, KO Y, PARK J. Evaluation of the osteogenic differentiation of gingiva-derived stem cells grown on culture plates or in stem cell spheroids: comparison of two-and three-dimensional cultures[J]. *Exp Ther Med*, 2017, 14(3): 2434-2438. DOI: 10.3892/etm. 2017. 4813.
- [2] SATO T, VRIES R, SNIPPERT H, et al. Single Lgr5 stem cells build crypt-villus structures in vitro without a mesenchymal niche[J]. *Nature*, 2009, 459(7244): 262-265. DOI:10.1038/nature07935.
- [3] HUCH M, BOJ S, CLEVERS H. Lgr5(+) liver stem cells, hepatic organoids and regenerative medicine[J]. *Regen Med*, 2013, 8(4): 385-387. DOI:10.2217/rme.13.39.
- [4] TAKASATO M, ER P X, CHIU H S, et al. Kidney organoids from human iPS cells contain multiple lineages and model human nephrogenesis[J]. *Nature*, 2015, 526(7574): 564-568. DOI:10.1038/nature15695.
- [5] MARIANI J, SIMONINI M V, PALEJEV D, et al. Modeling human cortical development in vitro using induced pluripotent stem cells [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2012, 109(31): 12770-12775. DOI: 10.1073/pnas.1202944109.
- [6] Breakthrough of the year 2013. Notable developments[J]. *Science*, 2013, 342(6165): 1435-1441. DOI:10.1126/science.342.6165.1444.
- [7] SATO T, STANGE D E, FERRANTE M, et al. Long-term expansion of epithelial organoids from human colon, adenoma, adenocarcinoma, and Barrett's epithelium[J]. *Gastroenterology*, 2011, 141(5): 1762-1772. DOI:10.1053/j.gastro.2011.07.050.
- [8] BARKER N, HUCH M, KUJALA P, et al. Lgr5(+ve) stem cells drive self-renewal in the stomach and build long-lived gastric units in vitro[J]. *Cell Stem Cell*, 2010, 6(1): 25-36. DOI:10.1016/j.stem. 2009.11.013.
- [9] HUCH M, GEHART H, VAN BOXTEL R, et al. Long-term culture of genome-stable bipotent stem cells from adult human liver[J]. *Cell*, 2015, 160(1/2): 299-312. DOI:10.1016/j.cell.2014.11.050.
- [10] TAKEBE T, ZHANG R R, KOIKE H, et al. Generation of a vascularized and functional human liver from an iPSC-derived organ bud transplant[J]. *Nat Protoc*, 2014, 9(2): 396-409. DOI: 10.1038/nprot. 2014.020.
- [11] FUJII M, SHIMOKAWA M, DATE S, et al. A colorectal tumor organoid library demonstrates progressive loss of niche factor requirements during tumorigenesis[J]. *Cell Stem Cell*, 2016, 18(6): 827-838. DOI:10.1016/j.stem.2016.04.003.
- [12] VAN DE WETERING M, FRANCIES H E, FRANCIS J M, et al. Prospective derivation of a living organoid biobank of colorectal cancer patients[J]. *Cell*, 2015, 161(4): 933-945. DOI: 10.1016 / j. cell.2015.03.053.
- [13] SACHS N, DE LIGT J, KOPPER O, et al. A living biobank of breast cancer organoids captures disease heterogeneity[J]. *Cell*, 2018, 172(1/2): 373-386. e10. DOI:10.1016/j.cell.2017.11.010.
- [14] MONDRINOS M, JONES P, FINCK C, et al. Engineering de novo assembly of fetal pulmonary organoids[J]. *Tissue Eng Part A*, 2014, 20(21/22): 2892-2907. DOI:10.1089/ten.TEA.2014.0085.
- [15] MCCracken K W, CATA E M, CRAWFORD C M, et al. Modeling human development and disease in pluripotent stem-cell-derived gastric organoids[J]. *Nature*, 2014, 516(7531): 400-404. DOI: 10.1038/nature13863.
- [16] BARTFELD S, BAYRAM T, VAN DE WETERING M, et al. In vitro expansion of human gastric epithelial stem cells and their responses to bacterial infection[J]. *Gastroenterology*, 2015, 148(1): 126-136. e6. DOI:10.1053/j.gastro.2014.09.042.
- [17] VLACHOGIANNIS G, HEDAYAT S, VATSIU A, et al. Patient-derived organoids model treatment response of metastatic gastrointestinal cancers[J]. *Science*, 2018, 359(6378): 920-926. DOI: 10. 1126/science.aao2774.
- [18] KARTHAUS W R, IAQUINTA P J, DROST J, et al. Identification

- of multipotent luminal progenitor cells in human prostate organoid cultures[J]. *Cell*, 2014, 159(1): 163-175. DOI:10.1016/j.cell.2014.08.017.
- [19] GAO D, VELA I, SBONER A, et al. Organoid cultures derived from patients with advanced prostate cancer[J]. *Cell*, 2014, 159(1): 176-187. DOI: 10.1016/j.cell.2014.08.016.
- [20] GREGGIO C, DE FRANCESCHI F, FIGUEIREDO-LARSEN M, et al. Artificial three-dimensional niches deconstruct pancreas development in vitro[J]. *Development*, 2013, 140(21): 4452-4462. DOI: 10.1242/dev.096628.
- [21] BOJ S F, HWANG C I, BAKER L A, et al. Organoid models of human and mouse ductal pancreatic cancer[J]. *Cell*, 2015, 160(1-2): 324-338. DOI:10.1016/j.cell.2014.12.021.
- [22] BROUTIER L, MASTROGIOVANNI G, VERSTEGEN M, et al. Human primary liver cancer-derived organoid cultures for disease modeling and drug screening[J]. *Nat Med*, 2017, 23(12): 1424-1435. DOI: 10.1038/nm.4438.
- [23] LEE S H, HU W, MATULAY J T, et al. Tumor evolution and drug response in patient-derived organoid models of bladder cancer[J]. *Cell*, 2018, 173(2): 515-528. e17. DOI: 10.1016/j.cell.2018.03.017.
- [24] PARDAL R, MOLOFSKY A V, HE S, et al. Stem cell self-renewal and cancer cell proliferation are regulated by common networks that balance the activation of proto-oncogenes and tumor suppressors[J]. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol*, 2005, 70: 177-185. DOI: 10.1101/sqb.2005.70.057.
- [25] BARKER N, RIDGWAY R A, VAN ES J H, et al. Crypt stem cells as the cells-of-origin of intestinal cancer[J]. *Nature*, 2009, 457(7229): 608-611. DOI:10.1038/nature07602.
- [26] BURRELL R, MCGRANAHAN N, BARTEK J, et al. The causes and consequences of genetic heterogeneity in cancer evolution[J]. *Nature*, 2013, 501(7467): 338-345. DOI:10.1038/nature12625.
- [27] HORVATH P, AULNER N, BICKLE M, et al. Screening out irrelevant cell-based models of disease[J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2016, 15(11): 751-769. DOI: 10.1038/nrd.2016.175.
- [28] HUANG L, HOLTZINGER A, JAGAN I, et al. Ductal pancreatic cancer modeling and drug screening using human pluripotent stem cell-and patient-derived tumor organoids[J]. *Nat Med*, 2015, 21(11): 1364-1371. DOI: 10.1038/nm.3973.
- [29] MERKER J D, OXNARD G R, COMPTON C, et al. Circulating tumor dna analysis in patients with cancer: american society of clinical oncology and college of american pathologists joint review[J]. *J Clin Oncol*, 2018, 36(16): 1631-1641. DOI: 10.1200/JCO.2017.76.8671.
- [30] MORGAN R A, YANG J C, KITANO M, et al. Case report of a serious adverse event following the administration of T cells transduced with a chimeric antigen receptor recognizing ERBB2[J]. *Mol Ther*, 2010, 18(4): 843-851. DOI: 10.1038/mt.2010.24.
- [31] KALAITSIDOU M, KUEBERUWA G, SCHUTT A, et al. CAR T-cell therapy: toxicity and the relevance of preclinical models[J]. *Immunotherapy*, 2015, 7(5): 487-497. DOI: 10.2217/imt.14.123.
- [32] CHUNG L, THIELE ORBERG E, GEIS A L, et al. Bacteroides fragilis toxin coordinates a pro-carcinogenic inflammatory cascade via targeting of colonic epithelial cells[J]. *Cell Host Microbe*, 2018, 23(2): 203-214. e205. DOI: 10.1016/j.chom.2018.01.007.
- [33] DEJEA C M, FATHI P, CRAIG J M, et al. Patients with familial adenomatous polyposis harbor colonic biofilms containing tumorigenic bacteria[J]. *Science*, 2018, 359(6375): 592-597. DOI: 10.1126/science.aah3648.
- [34] ROUTH B, LE CHATELIER E, DEROSA L, et al. Gut microbiome influences efficacy of PD-1-based immunotherapy against epithelial tumors[J]. *Science*, 2018, 359(6371): 91-97. DOI: 10.1126/science.aan3706.
- [35] KRESO A, DICK J E. Evolution of the cancer stem cell model[J]. *Cell Stem Cell*, 2014, 14(3): 275-291. DOI: 10.1016/j.stem.2014.02.006.
- [36] ZHENG H, POMYEN Y, HERNANDEZ M, et al. Single-cell analysis reveals cancer stem cell heterogeneity in hepatocellular carcinoma[J]. *Hepatology*, 2018, 68(1): 127-140. DOI: 10.1002/hep.29778.
- [37] FONG E L S, TOH T B, LIN Q X X, et al. Generation of matched patient-derived xenograft in vitro-in vivo models using 3D macroporous hydrogels for the study of liver cancer[J]. *Biomaterials*, 2018, 159: 229-240. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2017.12.026.
- [38] WEEBER F, OOF T S N, DIJKSTRA K K, et al. Tumor organoids as a pre-clinical cancer model for drug discovery[J]. *Cell Chem Biol*, 2017, 24(9): 1092-1100. DOI: 10.1016/j.chembiol.2017.06.012.

[收稿日期] 2018-05-17

[修回日期] 2018-06-25

[本文编辑] 韩丹,阮芳铭