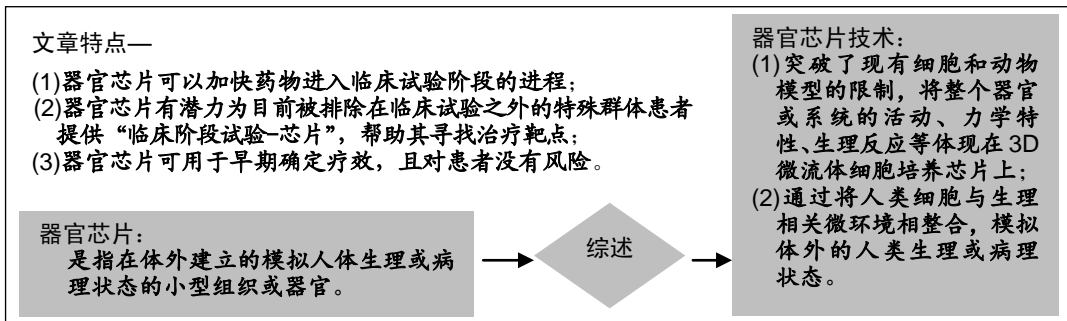


器官芯片与工程化人体组织在药物研发中的应用前景

陈沛杉, 张海燕(首都医科大学基础医学院细胞生物学系, 北京市 100069)

DOI:10.3969/j.issn.2095-4344.2711 ORCID: 0000-0001-5256-6792(陈沛杉); 0000-0001-9005-5774(张海燕)

文章快速阅读:



陈沛杉, 女, 1997年生, 北京市人, 汉族, 首都医科大学 2016 级长学制临床医学专业在读。

通讯作者: 张海燕, 教授, 博士生导师, 首都医科大学基础医学院细胞生物学系, 北京市 100069

文献标识码:A

投稿日期: 2019-11-16

送审日期: 2019-11-20

采用日期: 2019-12-26

在线日期: 2020-03-12



文题释义:

器官芯片(Organs-on-a-chip, OOC): 是指在体外建立的模拟人体生理或病理状态的小型组织或器官, 是将细胞培养组装成为具有功能的、与器官结构功能类似的三维组织结构器官模型, 通过简单的设计兼有传统人类细胞培养和器官培养系统的高生物保真度水平, 来实现预测器官水平反应的功能组织单位。

复合器官芯片的整合: 细胞和器官通过分泌可溶性因子、胞质信号分子, 来介导与外周循环系统之间的可溶性物质交换。不同的器官芯片个体之间通过模仿体内血液灌注的微流体相互连接, 并建立动态平衡。这些连接激活重点器官之间的物质、信息交换, 创造出更贴近真实药物传输和摄入情况的方法。

摘要

背景: 器官芯片是指在体外建立的模拟人体生理或病理状态的小型组织或器官。

目的: 综述单器官芯片和复合器官芯片的设计理念, 讨论其在药物发展和精准医疗中的潜力、应用前景, 以及目前尚未解决的问题。

方法: 通过计算机检索在 PubMed 数据库、CNKI 中国期刊全文数据库收录的相关文献。英文检索词为“Organs-on-a-chip, drug development, cell culture, Organoids, microfluidic systems, induced pluripotent stem cells, liver”, 中文检索词为“器官芯片, 药物研发, 肝脏, 微流控系统, 血脑屏障, 肿瘤”, 最终纳入 68 篇文献进行归纳总结。

结果与结论: 器官芯片技术集合了工程化人体组织工程、半导体制造以及不同来源的成人细胞培养等领域的最新研究进展, 突破了现有细胞和动物模型的限制, 将整个器官或系统的活动、力学特性、生理反应等体现在 3D 微流体细胞培养芯片上。通过将人类细胞与生理相关微环境相整合, 模拟体外的人类生理或病理状态, 使得它们有望用于补充并减少药物、医学设备及生物材料的临床应用前的动物实验, 也为筛选药物的不良反应提供有利的体外平台。

关键词:

器官芯片; 组织工程; 干细胞; 药物研发; 诱导多潜能干细胞; 肝实质细胞; 细胞培养; 3D 培养

中图分类号: R458; R496; R318

基金资助:

国家自然科学基金面上项目(81770616), 项目负责人: 张海燕

Organs-on-a-chip and engineered human tissues in drug development

Chen Peishan, Zhang Haiyan (Department of Cell Biology, Basic Medical College, Capital Medical University, Beijing 100069, China)

Chen Peishan, Department of Cell Biology, Basic Medical College, Capital Medical University, Beijing 100069, China

Abstract

BACKGROUND: Organs-on-a-chip (OOC) is a chip that miniatures tissues or organs *in vitro* to simulate human physiological or pathological activities.

OBJECTIVE: To review the design considerations of single and multi-OOCs, expound its achievements, potential and application prospect in drug development and precision medicine, as well as the remaining challenges.

METHODS: We searched relevant articles in PubMed and CNKI databases with the keywords of “organs-on-a-chip, liver, blood-brain barrier, tumor” in Chinese and “organs-on-a-chip, drug development, cell culture, organoids, microfluidic systems, induced pluripotent stem cells, liver” in English, respectively. Finally, 68 articles were analyzed in this review.

Corresponding author:
Zhang Haiyan, Professor,
Doctoral supervisor,
Department of Cell Biology,
Basic Medical College,
Capital Medical University,
Beijing 100069, China

RESULTS AND CONCLUSION: OOC is a breakthrough technology that benefits from progresses in engineered human tissue engineering, semiconductor fabrication and adult somatic cell culture, exceeding the limitations of current cell and animal models. The activities, mechanical properties and physiological reactions of the whole organ or human system can be embodied in the 3D microfluidic OOC. As it can simulate physiological or pathological states *in vitro* by integrating human cells with physiology-related microenvironments, OOCs are expected to supplement and reduce the pre-clinical trials of drugs, medical devices and biological materials, offering a favorable *in vitro* platform for screening drug-related adverse reactions.

Key words: organs-on-a-chip; tissue engineering; stem cells; drug development; induced pluripotent stem cells; hepatic parenchymal cells; cell culture; 3D culture

Funding: the National Natural Science Foundation of China, No. 81770616 (to ZHY)

0 引言 Introduction

尽管体外模拟人体生理或病理状态是一项艰巨的任务,但对于转化医学研究和人类健康则非常重要。目前生物医学研究很大程度上依赖于体外培养的人体细胞或啮齿动物模型。利用体外培养细胞进行研究可以直接反映出药物的效应,但在生理学功能方面的反应则与人体真实生理功能仍有明显不同。与之相比,动物模型能够模拟某一器官或多器官水平的生理功能,但其局限性在于动物和人类生理功能固有的差异。器官芯片技术是结合上述两种模型的优点,在组织特异性三维环境中培养人体细胞,构建与人体器官相似的组织结构,再现或模拟器官中细胞间、细胞与细胞外分子的相互作用以及生理功能。

器官芯片的目的并不是建立一个完整的活体器官,而是建立一个用可控的方法来模拟某些人类生理条件下的最小功能单元。例如,将物理、化学或生物刺激施加于细胞上来模拟细胞在体内的信息传导,如电刺激下的心肌细胞;将细胞培养在特定的基膜上可以重新建立不同组织之间联系,如肺泡-毛细血管交换网和血脑屏障^[1-2];以微流控芯片技术为研究平台,采用软光刻的方法制备了具有双层结构的微流控肿瘤细胞芯片^[3]。对于大多数人体组织而言,器官芯片还需要考虑物理力学性能,如流体动力学、机械力学和电子学等特征。多种器官可以通过将单个的器官芯片以具有体积比和流量分布的微流体通道有机结合以实现生理功能的模拟,从而构建人体体外模型的子系统^[4](见图1)。

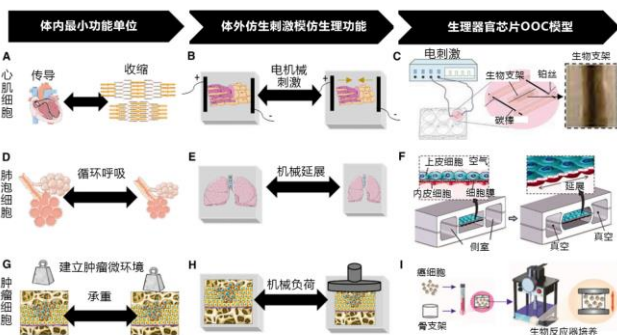


图1 器官芯片的设计

1 资料和方法 Data and methods

1.1 资料来源

检索数据库: PubMed, CNKI中国期刊全文数据库。

英文检索词: Organs-on-a-chip, drug development, cell culture, Organoids, microfluidic systems, induced pluripotent stem cells, liver.

中文检索词: 器官芯片, 药物研发, 肝脏, 微流控系统, 血脑屏障, 肿瘤。

1.2 数据提取 利用关键词分别在PubMed和CNKI两个数据库中检索到文献共计351篇,通过阅读摘要及全文,分析、排除与主题相关性差及内容相似的文献283篇,最终纳入68篇。文献检索、分析流程图见图2。

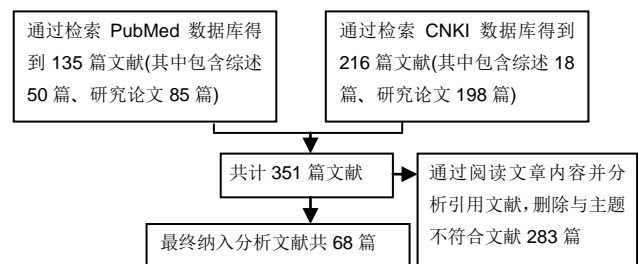


图2 文献检索流程图

2 结果 Results

2.1 器官芯片研发的重要性 一般而言,利用器官芯片可以获得人类遗传学、生理学、病理学等多种特征数据,从而实现降低药物开发的风险和建立个性化治疗方案的双重目标。2003年,科学家首次尝试将细胞培养技术和微流体技术整合在一起,构建起器官芯片的雏形^[5]。现阶段器官芯片平台利用微流体技术和三维细胞培养平台技术设计出的微型人体组织和器官,通过减少动物模型、细胞培养和临床研究间安全性和有效性的差异,加快了药物的研究与开发^[6-11]。使用人类器官芯片模型所获得的大量数据可以解决那些耗资巨大、危险性,但最终失败的临床研究问题。使用患者特定的细胞进行治疗,而不是将患者作为群体看待,可以减少遗传因素导致的种族、性别和年龄等重要差异。同样,精准医疗可以促进不符合标准的患者群体的体外临床试验设计(即罕见疾病和儿科疾病),或加快建立针对特定患者优化的药物治疗方案的发展。此外,行业采用器官芯片将促进减少、精炼并最终取代具有更多伦理问题的动物模型^[12-13]。

2.2 器官芯片的设计原则 器官芯片是将培养细胞组装成为具有功能的、与器官结构功能类似的三维组织结构器官模型^[14-15],通过简单的设计兼有传统人类细胞

培养和器官培养系统的高生物保真度水平,来实现预测器官水平反应的功能组织单位。为了实现这一目标,器官芯片采取专为微流体系统设计的控制策略与多参数方法的优势。由于微细加工方法最初是为电子器件公司研发芯片设计的,因此“芯片”成为器官芯片名称的一部分。

在设计器官芯片时,第一步是确定建模器官的功能特征,一些特定问题参数和解答预期问题或服务于预期应用的读数。器官芯片的复杂性也要适当明确,同时注意与药物筛选方法的兼容性和易用性。器官芯片可以用于浓度-效应关系的研究,从而适用确定合适药物剂量方案^[5, 16]。下面总结一下人类器官芯片设计过程中所涉及的一些关键因素。

2.2.1 人类细胞类型 器官芯片使用的人体细胞类型在很大程度上取决于细胞是否容易获得,以及是否具有形成有功能组织的能力。理想情况下,器官芯片内的所有细胞都应来源于同一个体的细胞。使用原代细胞^[17]、细胞系和诱导多能干细胞衍生物的利弊可能在不同器官中有明显的差异^[18-19]。

对于大多数人体器官来说,原代细胞很难获得,数量有限,较难在体外大量扩增培养,这些缺点限制了利用同一个体的细胞开发器官芯片来保持遗传一致性的可能^[20]。细胞系相对而言易于培养和扩增,尽管在常规培养条件下缺乏功能特征表型,但可以通过灌流或共培养等方式改良其功能特征^[21]。就目前来讲,如果没有更好的解决办法,器官芯片仍然可以用细胞系进行实验^[22]。

诱导性多能干细胞是器官芯片理想的、无限的细胞来源,因为它们来源于具有患者特异性的小部分细胞或组织样本(如血液),可以在体外大量扩增且能够选择性地分化成多个细胞谱系^[23]。使用单个多能干细胞系诱导生成的器官芯片中所有组织单元能够排除基因型和表型的影响。遗传同质性也利于构建研究药物影响个体的模型^[24]。此外,可以通过对诱导多能干细胞的基因进行编辑来控制同源基因的产生,引入或移除某一疾病的相关突变基因以进行研究和开发靶向特异性药物。当然,并不是所有的细胞谱系都可以有效地从同一诱导性多能干细胞系中获得,定向诱导性多能干细胞的分化和子代细胞的功能成熟仍然是这一领域面临的巨大挑战。一般而言,诱导性多能干细胞衍生的细胞在分化过程中会失去某些表观遗传标记^[25],且其功能并不完全成熟^[26]。工程组织的成熟度和表型稳定性可以通过物理方法或加入器官特异性支持细胞如成纤维细胞、间充质干细胞和内皮细胞等得到改善^[5, 15, 27]。

2.2.2 仿生工程的操作性 对于每个器官芯片,可以通过生物工程的方式在体外模拟体内存在的特殊信号,以此实现细胞的定向诱导分化、组织装配和功能成熟。三维的细胞培养方式能明显改善细胞的生理反应。器官芯

片微环境的设计应考虑以下几点:静态的或动态的张力,电信号或光信号,流体剪切力,生化和激素等信息^[15];在可能的范围内,用一种相对简单的方式重建每个组织系统的重要特征,并保持适应器官芯片高通量研究的能力^[28-29];环境要素的控制,包括能够感受并传递生物物理刺激,对驱动生理反应的仿生线索进行反馈控制;由于许多药物不良反应的毒性不是直接的,一些重要的数据需要细胞拥有传代能力才能够获得;可重复进行剂量-反应研究的能力能够帮助指导临床剂量方案的设计。

2.2.3 细胞、组织和器官特异性功能数据的实时获得 对于研究组织对环境信号的动态反应,可以实时获得细胞的物理、代谢、分子状态以及整合组织反应情况的数据是非常重要的。ZHANG等^[30]整合了一个集物理、生化和光传感器一体的模块化平台,通过一个流体通路,以连续、动态和自动化的方式操作芯片上的器官单元。该平台技术通过集成大量的实时传感器来实现对生物、物理和生化参数的自动化实时监测,为促进当前器官芯片模型在药物筛选中的更优性能铺路。

2.2.4 器官芯片平台的可配置性和集成性 虽然会非选择性地吸收一些如氧气和许多药物在内的疏水分子,但最常用于制造器官芯片的材料仍为聚二甲基硅氧烷^[18, 31]。聚二甲基硅氧烷的优点是其生物相容性高,易于微细加工,光学透明性良好,且可高压灭菌。为了提升聚二甲基硅氧烷的使用效率,人们正致力于研发低渗透性^[32],并且能减少药物混合与吸收的涂料^[31]。聚二甲基硅氧烷的替代材料包括玻璃、聚碳酸酯和聚氨酯,以及其他生物相容性聚合物。

2.2.5 器官芯片与药物研发格式相同 为了分析测量的可配置性和高通量,集成器官芯片平台的外部足迹应与药物开发中常用的格式(如多孔板和玻片)兼容,而内部设计应针对组织,并支持单个器官芯片之间的连接。器官芯片之间的流体循环和集成是实现器官-器官串联的关键,但目前这方面的研究还没有重大突破。换言之,能够使支持系统内所有器官芯片整合的通用介质还有待研究,目前已经成熟且表型稳定的方法仅限于组织层面,尚无法同时满足保持个体器官层面功能的需求^[30-33]。另外,组织单元间可通过模拟体内血液运行的屏障作用,将内皮细胞与血液分离。这样,组织特异性介质可以支持每个组织并使之成熟,同时通过血管连接实现组织单元之间的串扰(如通过细胞因子和细胞分泌小泡如外泌体)。由于不同器官之间的细胞代谢不完全相同,再加上细胞成熟度和培养时间的差异,目前还无法测定血液在每个器官和组织的生理流速。以下几个因素可以作为参考,如血流分布,器官的相对大小和体内的代谢率^[4]。器官芯片灌注速率是

决定多器官芯片中流量配置的关键。

组织工程领域的根本问题在于对组织/器官模型高生物保真度和维护、操作、控制简单性的矛盾要求。在某些情况下,生物功能的复杂结构与功能可以用简单的方法来模拟^[34]。例如微型泵可以模拟心脏搏出的血液流动^[7, 35-38](为心脏供血的作用),生物催化反应或微粒体可以提供一些类似肝脏的代谢作用^[39]。灵活改变器官芯片的复杂性有助于优化各种类型的研究设计。

2.3 单一器官芯片 器官芯片所呈现的结果应考虑生物物理刺激(包括流体力学,机械,电气和化学等)对器官模型的影响。以下以肝脏为例,解释如何用仿生信号设计生理相关的人类器官芯片。

肝脏负责许多重要功能,包括药物和毒物的代谢、胆汁生成、能量代谢和血浆蛋白的生物合成,其中的代谢功能需要细胞色素P450酶的催化。以往大多数肝实质细胞模型都是将原代肝实质细胞培养在经胶原或其他蛋白衍生物包被的2D(two-dimensional, 二维)基质上。尽管这些模型为研究肝脏基本生物功能提供了可行的、有效的方法,但它并不能长期维持体外肝实质细胞的细胞色素P450酶活性。2D基质将贴壁肝实质细胞的骨架体系转变为平面化状态,限制了细胞之间、细胞与基质之间的反应,最终导致细胞极性的减弱,胆小管的减少,信号通路的缺失。

最近的研究表明,3D(three-dimensional, 三维)培养条件结合多种细胞的共培养能够表现出在2D培养中无法体现出的肝实质细胞生物特性。SCHEPERS等^[40]发现在锥形微孔中共同培养人肝实质细胞与3T3-J2成纤维细胞并将聚合体密封入小的聚乙二醇微组织可以一定程度上使肝实质细胞保持基本的形态特征,维持细胞色素P450酶活性。若将肝实质细胞与成纤维细胞及其他支持细胞共培养或灌注则能有效提升体外培养肝实质细胞细胞色素P450酶的功能^[41-42]。研究发现,利用聚二甲基硅氧烷模板在成纤维细胞层上贴附肝实质细胞的共培养方式,可使两种细胞的细胞界限清晰,细胞内白蛋白染色和E-cadherin表达增强,肝实质细胞特异性功能增强,糖原合成活跃^[5]。

上述利用共培养方式建立的肝脏器官芯片中含有交错排列的肝实质细胞、成纤维细胞或聚集体^[42-45]。如果将这样的微组织置入微流体装置中,就可以为肝实质细胞提供超过28 d的白蛋白分泌所需要的氧气及营养物质。在微循环中持续的介质循环则能够传送这些营养物质,且为分析药物引起的下游靶向器官代谢机制提供可能。

研究发现,通过微柱体的排列使得具有极性特征的肝实质细胞形成胆小管样结构^[46],进而构成肝小叶模型。将连接在内皮屏障上的致密肝实质细胞或使用

流体支持共培养的膜借助微通道合并^[47],即获得了肝窦器官芯片^[48]。由于原代人肝实质细胞的寿命和可用性有限^[49],而肝实质细胞系所具有的特征的功能有限^[50],使用诱导多能干细胞衍生肝实质细胞构建肝脏器官芯片模型是未来发展的方向^[5, 51],它将实现针对不同的患病个体的药物研究。

2.4 复合器官芯片的整合 细胞和器官通过分泌可溶性因子、胞质信号分子,来介导与外周循环系统之间的可溶性物质交换^[52-53]。不同的器官芯片个体之间通过模仿体内血液灌注的微流体相互连接,并建立动态平衡。这些连接激活重点器官之间的物质、信息交换,创造出更贴近真实药物传输和摄入情况的方法。

2.4.1 静态器官室 不同器官间的静态微流体连接取决于器官的物理亲和力而不是连接的流体本身。在同一培养皿中培养所有的细胞和器官可以使可溶性因子的运输和细胞间的交流更加便利^[54]。复合单器官芯片可以在含有组织特异性介质的小皿中培养,然后通过大皿中的介质相互连接^[55]。同一介质的联合培养模型可用来整合多器官系统。

2.4.2 单向灌注 通过微流体脉管系统单向灌注连接的多器官可以模拟药物进入血管系统和从一个器官到另一个器官的过程。这些培养系统可以被设计成以平行、串联或二者兼有的方式排列各个腔室。然而,单向流动仅能使位于下游的器官产生反应,却消除了人体循环系统经典的上游反馈^[56]。多个器官可以通过流体通路整合,例如将组织器官室中的血管网络连接成能够以便捷的方式实现下游流动的更大血管,并通过成功筛选抗癌和抗血管药物来验证效果^[57]。

2.4.3 再循环微流控流 在具有连续灌注的器官芯片内的微流体连接更接近于血液循环。这些设置基于单向流动的介质再循环,从而在下游和上游发生器官间的信号交流。可以通过预定的微流体路径或通过单向流动系统描述的灵活性方法来建立流体连接。重力驱动流可用于促进通过微流体通道连接的单个器官芯片之间的相互作用^[58]。复合器官芯片则由屏障组织(从多孔膜中分离得到)和实质组织(通过微通道再循环连接的器室)连接而成^[17]。

在复合的器官芯片肝癌模型中,显示出了使用三维培养进行药物筛选的重要性。研究表明,三维培养出的细胞比单细胞培养的同种细胞更能抵抗药物^[59]。药物和它们的代谢物再循环也是药代动力学的长期研究对象。然而,这样的器官芯片应该避免使用药物渗透性材料(如聚二甲基硅氧烷),尽量减少培养基体积(以避免分泌因子的稀释),并在整个实验中对介质进行取样。数学建模可以得到药物测试的实验设计方法和合理化选择药物给药方案。构建复合器官芯片模型将是临床前体外研究向临床相关性研究进步所至关

重要的桥梁。

截止到目前,已建立的13类器官芯片已经支持屏障和非屏障组织的结合^[60]。器官之间可以彼此分离,如图3A所示。通过血管循环连接,选择性屏障(例如内皮细胞膜),允许分子运输的同时保持器官特异性介质和循环血管特异性介质的分离,如图3,支持个体器官系统发挥最大的功能进而最终成熟。

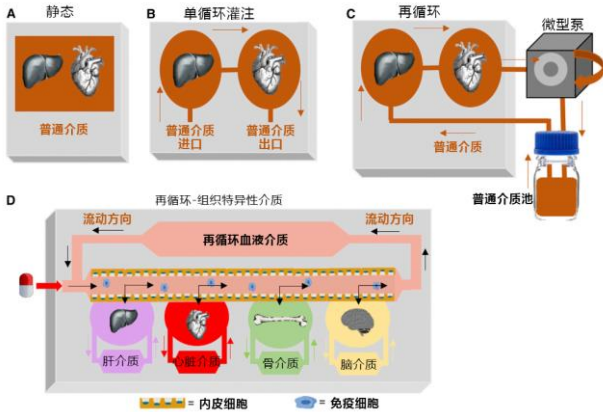


图3 复合器官芯片的整合示意图

2.5 面临的挑战

2.5.1 模拟药物吸收、分布、代谢和排泄 目前研究者所面临的挑战包括在器官芯片中加入汇流的、稳定的且有功能的内皮细胞以作为药物和生物活性因子运输的选择性屏障,以及一组能够满足药物研究所需的关键功能的器官。药物分配是产生不良药物副作用的主要原因,在现有的系统中,药物分配仍然是一个挑战^[61]。器官芯片模拟药物ADME的能力将为临床研究提供信息,并可能为器官芯片的生理排列提供建议,使药物能够以与人体内相似的方式模拟体内分布^[62]。

2.5.2 缺失的部分 未来应把研究的重点放在模拟人体内免疫和内分泌系统的方面,以此增加器官芯片的生理相关性。由于它们直接与体内所有器官系统的功能相互作用,因此在动物身上很难得到充分的模拟^[63]。关于微生物群系重要性的最新研究提出了另一个观点,未来的器官芯片系统中应该包括干细胞的生理成分。为了忠实地总结这些系统之间复杂的相互作用,在相应患者的特异性器官芯片中建立患者特异性微生物群是必要的^[8]。

3 当前现状与未来展望 Current and future

通过体外模仿患者的遗传学和病理生理学特点,器官芯片可用于预测疾病、对患者特异性的健康和疾病的建模,帮助药物开发并使其更具有特异性,促进它们在系统生物学精准医疗中的应用。

自2012以来,美国一直引领着器官芯片技术的发展。通过组织芯片(2012-2014)的初步开发、集成器官芯片的进展(2014-2017)、当前器官芯片的独立验证

(2016-2018),使用组织芯片进行疾病模拟和药物功效测试的倡议正在进行。日本与欧洲国家关于3R(减少(Reduction)、替代(Replacement)、优化(Refinement))的广泛推进增强了器官芯片的技术支持^[64]。政府、工业、学术研究、实验室、商业实体和监管机构之间的合作,将加快器官芯片进入标准工业流程的速度。

药物开发是一个低效、资源高度集中的过程,且在大多数情况下,并不能开发出一种新药。由于许多药物在III期试验或在上市后表现出严重不良反应^[7],开发新药的平均成本常常超过10亿美元^[65]。动物模型的不可预测性使得90%的候选药物在人体试验时失败^[66]。同样的,由于药物在动物身上发生的不良反应不一定转化到人类身上,这种筛查试验可能忽略了一些有效药物。这些假阳性和假阴性读数造成了巨大的经济负担,也导致在决策一种药物潜在的盈利能力时,更看重其是否存在潜在的风险,而非药物治疗疾病的潜力。器官芯片促进药物发展的关键在于决策。应进一步开发哪些药物并进行测试,应停止开发哪些会对人体产生毒性的药物?如果一种药物最终会伤害人,更早的决定其能否进入市场可以节省更多的健康效益,金钱和时间^[35]。

在药物的临床前筛选中,器官芯片可以确认药物没有毒性(例如,通过评估心血管、肝脏或皮肤毒性),预估治疗的预期效果。微流控多器官器官芯片脉管系统适用于非靶点的临床前毒性测定。可以重新设计早期识别脱靶效应的药物,以降低患者的风险和开发成本。

器官芯片可以加快药物进入临床试验阶段的进程。器官芯片有潜力为目前被排除在临床试验之外的特殊群体患者提供“临床阶段试验-芯片”,帮助其寻找治疗靶点。器官芯片可用于早期确定疗效,且对患者没有风险。使用患者特异性细胞能对不同亚群的患者进行建模,尽早识别药物副作用或药物之间的交互作用。患者专用器官芯片也可用于了解临床试验上观察到的阴性结果,进一步确定是否存在患者特异性药物敏感性不明或考虑到患者的特异性重新定向设计临床试验。

药物西沙必利进入人体释放入血后突发的致死作用可表明应用器官芯片的重要性。后续研究发现,约56%出现不良反应的患者同时服用了抑制肝脏内细胞色素P450 3A4酶的药物,从而影响了西沙必利代谢,导致患者血清中西沙比利浓度的增加^[67]。受影响的患者群体则有潜在的心脏病或心律失常史,这使他们更容易发生西沙必利引起的原发性心律失常^[11]。如果使用患者的生理性特异细胞器官芯片系统能够预测或评价药物如何潜在的影响每个患者或一组患者,这种潜在的结果原本是可以避免的。同时,需要在药物上市时提供处方药的适当信息,从一开始就避免潜在的药物间相互作用与并发症。

由于器官芯片可以用来研究在多个人体器官中的靶

向机制,它们能提供更真实的人体疾病模型^[68]。使用特定患者的人类诱导多能干细胞和基因编辑技术,如CRISPR-Cas(CRISPR associated- Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats),将可以研究基因突变对器官功能的影响,以及随后治疗方法的作用途径与效果。这些器官芯片模型能为疾病进展和药物作用机制提供新的见解。

作者贡献: 第一作者陈沛杉负责文献查找、收集、综述撰写;通讯作者张海燕负责选题、分析评估文献、修改和审定文章内容。

经费支持: 该文章接受了“国家自然科学基金面上项目(81770616)”的资助。所有作者声明,经费支持没有影响文章观点和对研究数据客观结果的统计分析及其报道。

利益冲突: 文章的全部作者声明,在课题研究和文章撰写过程不存在利益冲突。

写作指南: 该研究遵守《系统综述和荟萃分析报告规范》(PRISMA指南)。

文章查重: 文章出版前已经过专业剽窃文献检测系统进行3次查重。

文章外审: 文章经小同行外审专家双盲外审,同行评议认为文章符合期刊发稿宗旨。

文章版权: 文章出版前杂志已与全体作者授权人签署了版权相关协议。

开放获取声明: 这是一篇开放获取文章,根据《知识共享许可协议》“署名-非商业性使用-相同方式共享4.0”条款,在合理引用的情况下,允许他人以非商业性目的基于原文内容编辑、调整和扩展,同时允许任何用户阅读、下载、拷贝、传递、打印、检索、超级链接该文献,并为之建立索引,用作软件的输入数据或其它任何合法用途。

4 参考文献 References

- [1] HUH D, MATTHEWS BD, MAMMOTO A, et al. Reconstituting organ-level lung functions on a chip. *Science*.2010;328(5986):1662-1668.
- [2] BOOTH R, KIM H. Characterization of a microfluidic in vitro model of the blood-brain barrier (muBBB). *Lab Chip*.2012;12(10):1784-1792.
- [3] 王帅超,杨仕平.用于肿瘤微环境研究的微流控细胞芯片构建[D]. 上海:上海师范大学,2018.
- [4] WIKSWO JP, CURTIS EL, EAGLETON ZE, et al. Scaling and systems biology for integrating multiple organs-on-a-chip. *Lab Chip*.2013;13(18):3496-3511.
- [5] PARK TH, SHULER ML. Integration of cell culture and microfabrication technology. *Biotechnol Prog*.2003;19(2):243-253.
- [6] BHATIA SN, INGBER DE. Microfluidic organs-on-chips. *Nat Biotechnol*.2014;32(8):760-772.
- [7] GINTANT G, SAGER PT, STOCKBRIDGE N. Evolution of strategies to improve preclinical cardiac safety testing. *Nat Rev Drug Discov*.2016;15(7):457-471.
- [8] GOBAA S, HOEHNEL S, ROCCIO M, et al. Artificial niche microarrays for probing single stem cell fate in high throughput. *Nat Methods*.2011;8(11):949-955.
- [9] PASSIER R, ORLOVA V, MUMMERY C. Complex Tissue and Disease Modeling using hiPSCs. *Cell Stem Cell*.2016;18(3):309-321.
- [10] POLINI A, PRODANOV L, BHISE NS, et al. Organs-on-a-chip: a new tool for drug discovery. *Expert Opin Drug Discov*.2014; 9(4):335-352.
- [11] ZHANG B, RADISIC M. Organ-on-a-chip devices advance to market. *Lab Chip*.2017;17(14):2395-2420.
- [12] RUSSELL WMS, BURCH RL. *The Principle of Humane Experimental Technique* (Wheathampstead, UK: Universities Federation of Animal Welfare). 1959.
- [13] HOLMES AM, CRETON S, CHAPMAN K. Working in partnership to advance the 3Rs in toxicity testing. *Toxicology*.2010;267(1-3):14-19.
- [14] AHADIAN S, CIVITARESE R, BANNERMAN D, et al. Organ-On-A-Chip Platforms: A Convergence of Advanced Materials, Cells, and Microscale Technologies. *Adv Healthc Mater*.2018;7(14).
- [15] LELIEVRE SA, KWOK T, CHITTIBOYINA S. Architecture in 3D cell culture: An essential feature for in vitro toxicology. *Toxicol In Vitro*.2017;45(Pt 3):287-295.
- [16] ROTHBAUER M, ZIRATH H, ERTL P. Recent advances in microfluidic technologies for cell-to-cell interaction studies. *Lab Chip*.2018;18(2):249-270.
- [17] SMITH AS, LONG CJ, BERRY BJ, et al. Microphysiological systems and low-cost microfluidic platform with analytics. *Stem Cell Res Ther*.2013;4 Suppl 1: S9.
- [18] XU Z, LI E, GUO Z, et al. Design and Construction of a Multi-Organ Microfluidic Chip Mimicking the in vivo Microenvironment of Lung Cancer Metastasis. *ACS Appl Mater Interfaces*.2016;8(39):25840-25847.
- [19] ABACI H E, GLEDHILL K, GUO Z, et al. Pumpless microfluidic platform for drug testing on human skin equivalents. *Lab Chip*. 2015;15(3):882-888.
- [20] ATAC B, WAGNER I, HORLAND R, et al. Skin and hair on-a-chip: in vitro skin models versus ex vivo tissue maintenance with dynamic perfusion. *Lab Chip*.2013;13(18):3555-3561.
- [21] ESCH MB, UENO H, APPLGATE DR, et al. Modular, pumpless body-on-a-chip platform for the co-culture of GI tract epithelium and 3D primary liver tissue. *Lab Chip*.2016;16(14):2719-2729.
- [22] SHAH P, FRITZ JV, GLAAB E, et al. A microfluidics-based in vitro model of the gastrointestinal human-microbe interface. *Nat Commun*. 2016; 7:11535.
- [23] TAKAHASHI K, TANABE K, OHNUKI M, et al. Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. *Cell*. 2007;131(5):861-872.
- [24] LIANG P, SALLAM K, WU H, et al. Patient-Specific and Genome-Edited Induced Pluripotent Stem Cell-Derived Cardiomyocytes Elucidate Single-Cell Phenotype of Brugada Syndrome. *J Am Coll Cardiol*.2016;68(19):2086-2096.
- [25] KIM K, DOI A, WEN B, et al. Epigenetic memory in induced pluripotent stem cells. *Nature*.2010; 467(7313):285-290.
- [26] RAJAMOCHAN D, MATSA E, KALRA S, et al. Current status of drug screening and disease modelling in human pluripotent stem cells. *BioEssays*. 2013; 35(3):281-298.
- [27] NUNES SS, MIKLAS JW, LIU J, et al. Biowire: a platform for maturation of human pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes. *Nat. Methods* 2013; 10(8): 781-787.
- [28] VILLASANTE A, MARTURANO-KRUIK A, VUNJAK-NOVAKOVIC G. Bioengineered human tumor within a bone niche. *Biomaterials*. 2014;35(22):5785-5794.
- [29] VILLASANTE A, MARTURANO-KRUIK A, ROBINSON ST, et al. Tissue-Engineered Model of Human Osteolytic Bone Tumor. *Tissue Eng Part C Methods*.2017;23(2):98-107.
- [30] ZHANG YS, ALEMAN J, SHIN SR, et al. Multisensor-integrated organs-on-chips platform for automated and continual in situ monitoring of organoid behaviors. *Proc Natl Acad Sci U S A*.2017; 114(12): E2293-E2302.
- [31] SHIRURE VS, GEORGE SC. Design considerations to minimize the impact of drug absorption in polymer-based organ-on-a-chip platforms. *Lab Chip*.2017;17(4):681-690.

- [32] VAN MEER BJ, DE VRIES H, FIRTH K, et al. Small molecule absorption by PDMS in the context of drug response bioassays. *Biochem Biophys Res Commun.*2017;482(2):323-328.
- [33] TSAMANDOURAS N, CHEN W, EDINGTON CD, et al. Integrated Gut and Liver Microphysiological Systems for Quantitative In Vitro Pharmacokinetic Studies. *AAPS J.*2017;19(5):1499-1512.
- [34] ONAKPOYA IJ, HENEGHAN CJ, ARONSON JK. Post-marketing withdrawal of 462 medicinal products because of adverse drug reactions: a systematic review of the world literature. *BMC Med.* 2016;14:10.
- [35] OLSSON S, EDWARDS IR. Tachycardia during cisapride treatment. *BMJ.*1992;305(6856):748-749.
- [36] GIACOMELLI E, BELLIN M, SALA L, et al. Three-dimensional cardiac microtissues composed of cardiomyocytes and endothelial cells co-differentiated from human pluripotent stem cells. *Development.*2017;144(6):1008-1017.
- [37] BURRIDGE PW, HOLMSTROM A, and WU JC. Chemically defined culture and cardiomyocyte differentiation of human pluripotent stem cells. *Curr Protoc Hum Genet.* 2015;87: 1-15.
- [38] MANNHARDT I, BRECKWOLDT K, LETUFFE-BRENIERE D, et al. Human Engineered Heart Tissue: Analysis of Contractile Force. *Stem Cell Reports.*2016;7(1):29-42.
- [39] KOSTADINOVA R, BOESS F, APPLGATE D, et al. A long-term three dimensional liver co-culture system for improved prediction of clinically relevant drug-induced hepatotoxicity. *Toxicol Appl Pharmacol.*2013;268(1):1-16.
- [40] SCHEPERS A, LI C, CHHABRA A, et al. Engineering a perfusable 3D human liver platform from iPS cells. *Lab Chip.*2016;16(14): 2644-2653.
- [41] DOMANSKY K, INMAN W, SERDY J, et al. Perfused multiwell plate for 3D liver tissue engineering. *Lab Chip.*2010;10(1):51-58.
- [42] BHISE NS, MANOHARAN V, MASSA S, et al. A liver-on-a-chip platform with bioprinted hepatic spheroids. *Biofabrication.*2016; 8(1):14101.
- [43] KHETANI SR, BHATIA SN. Microscale culture of human liver cells for drug development. *Nat Biotechnol.*2008;26(1):120-126.
- [44] CHO CH, PARK J, TILLES AW, et al. Layered patterning of hepatocytes in co-culture systems using microfabricated stencils. *Biotechniques.*2010;48(1):47-52.
- [45] RAMAIAHGARI SC, DEN BRAVER MW, 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. *Arch Toxicol.*2014;88(5):1083-1095.
- [46] GORAL VN, HSIEH YC, PETZOLD ON, et al. Perfusion-based microfluidic device for three-dimensional dynamic primary human hepatocyte cell culture in the absence of biological or synthetic matrices or coagulants. *Lab Chip.*2010;10(24):3380-3386.
- [47] LEE PJ, HUNG PJ, LEE LP. An artificial liver sinusoid with a microfluidic endothelial-like barrier for primary hepatocyte culture. *Biotechnol Bioeng.*2007;97(5):1340-1346.
- [48] RENNERT K, STEINBORN S, GROGER M, et al. A microfluidically perfused three dimensional human liver model. *Biomaterials.*2015;71:119-131.
- [49] GODOY P, HEWITT NJ, ALBRECHT U, et al. Recent advances in 2D and 3D in vitro systems using primary hepatocytes, alternative hepatocyte sources and non-parenchymal liver cells and their use in investigating mechanisms of hepatotoxicity, cell signaling and ADME. *Arch Toxicol.*2013;87(8):1315-1530.
- [50] LUBBERSTEDT M, MULLER-VIEIRA U, MAYER M, et al. HepaRG human hepatic cell line utility as a surrogate for primary human hepatocytes in drug metabolism assessment in vitro. *J Pharmacol Toxicol Methods.*2011;63(1):59-68.
- [51] WARE BR, BERGER DR, KHETANI SR. Prediction of Drug-Induced Liver Injury in Micropatterned Co-cultures Containing iPSC-Derived Human Hepatocytes. *Toxicol Sci.*2015; 145(2):252-262.
- [52] LI Y, YANG Y, XIONG A, et al. Comparative Gene Expression Analysis of Lymphocytes Treated with Exosomes Derived from Ovarian Cancer and Ovarian Cysts. *Front Immunol.*2017;8:607.
- [53] YIN P, LV H, LI Y, et al. Exosome-Mediated Genetic Information Transfer, a Missing Piece of Osteoblast-Osteoclast Communication Puzzle. *Front Endocrinol (Lausanne).*2017;8:336.
- [54] LI AP, UZGARE A, LAFORGE YS. Definition of metabolism-dependent xenobiotic toxicity with co-cultures of human hepatocytes and mouse 3T3 fibroblasts in the novel integrated discrete multiple organ co-culture (IdMOC) experimental system: results with model toxicants aflatoxin B1, cyclophosphamide and tamoxifen. *Chem Biol Interact.*2012;199(1):1-8.
- [55] LI AP, BODE C, SAKAI Y. A novel in vitro system, the integrated discrete multiple organ cell culture (IdMOC) system, for the evaluation of human drug toxicity: comparative cytotoxicity of tamoxifen towards normal human cells from five major organs and MCF-7 adenocarcinoma breast cancer cells. *Chem Biol Interact.* 2004;150(1):129-136.
- [56] LAU YY, CHEN YH, LIU TT, et al. Evaluation of a novel in vitro Caco-2 hepatocyte hybrid system for predicting in vivo oral bioavailability. *Drug Metab Dispos.*2004;32(9):937-942.
- [57] PHAN D, WANG X, CRAVER BM, et al. A vascularized and perfused organ-on-a-chip platform for large-scale drug screening applications. *Lab Chip.*2017;17(3):511-520.
- [58] OLEAGA C, BERNABINI C, SMITH AS, et al. Multi-Organ toxicity demonstration in a functional human in vitro system composed of four organs. *Sci Rep.*2016; 6:20030.
- [59] MA L, BARKER J, ZHOU C, et al. Towards personalized medicine with a three-dimensional micro-scale perfusion-based two-chamber tissue model system. *Biomaterials.*2012; 33(17): 4353-4361.
- [60] MILLER PG, SHULER ML. Design and demonstration of a pumpless 14 compartment microphysiological system. *Biotechnol Bioeng.*2016;113(10):2213-2227.
- [61] UPADHYAY RK. Drug delivery systems, CNS protection, and the blood brain barrier. *Biomed Res Int.* 2014; 2014: 869269.
- [62] KIMURA H, IKEDA T, NAKAYAMA H, et al. An on-chip small intestine-liver model for pharmacokinetic studies. *J Lab Autom.* 2015;20(3):265-273.
- [63] HABERT R, MUCZYNSKI V, GRISIN T, et al. Concerns about the widespread use of rodent models for human risk assessments of endocrine disruptors. *Reproduction.*2014;147(4): R119-R129.
- [64] CHO I, BLASER MJ. The human microbiome: at the interface of health and disease. *Nat Rev Genet.*2012;13(4):260-270.
- [65] DIMASI JA, HANSEN RW, GRABOWSKI HG. The price of innovation: new estimates of drug development costs. *J Health Econ.*2003;22(2):151-185.
- [66] JEKUNEN A. Decision-making in product portfolios of pharmaceutical research and development--managing streams of innovation in highly regulated markets. *Drug Des Devel Ther.* 2014;8:2009-2016.
- [67] NG KS, THAM LS, TAN HH, et al. Cisapride and torsades de pointes in a pacemaker patient. *Pacing Clin Electrophysiol.*2000; 23(1):130-132.
- [68] INGBER DE. Reverse Engineering Human Pathophysiology with Organs-on-Chips. *Cell.*2016;164(6):1105-1109.