

类器官芯片在异种器官移植中的应用前景

林禧龙 王玉 彭江 魏红江 孙圣坤

【摘要】 异种器官移植是解决供器官短缺的重要途径，但目前仍面临诸多挑战，如急性排斥反应、人畜共患病等。类器官芯片技术是指在体外模拟人体器官生理功能的微型细胞培养装置，近年来在同种移植领域已经取得了一系列重要成果，在异种移植领域具有较大应用前景，为异种器官移植研究带来了新机遇。因此，本文就类器官芯片的研究现状与进展，结合异种器官移植面临的各种问题，探讨类器官芯片技术在解决异种器官移植免疫抑制方案选择、配型、病毒再激活方面的应用，为解决当前异种器官移植领域面临的问题开辟新的途径，促进异种器官移植的进一步发展。

【关键词】 类器官芯片；异种移植；器官移植；基因修饰猪；配型；免疫抑制；排斥反应；病毒

【中图分类号】 R617, R318 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 1674-7445 (2025) 04-0002-07

Application prospects of organoid-on-chips technology in xenotransplantation Lin Xilong*, Wang Yu, Peng Jiang, Wei Hongjiang, Sun Shengkun. *Department of Urology, Medical Department of the Third Medical Center, Chinese People's Liberation Army General Hospital, Beijing 100853, China
Corresponding author: Sun Shengkun, Email: sunshengkun@301hospital.org

【Abstract】 Xenotransplantation is an important approach to addressing the shortage of donor organs. However, it still faces numerous challenges, such as acute rejection and zoonotic diseases. Organoid-on-a-chip technology refers to a microcell culture device that simulates the physiological functions of human organs *in vitro*. In recent years, it has achieved a series of important results in the field of allotransplantation and has great application prospects in the field of xenotransplantation, bringing new opportunities for xenotransplantation research. Therefore, this article discusses the current research status and progress of organoid-on-a-chip technology, combined with the various problems faced by xenotransplantation, to explore the application of organoid-on-a-chip technology in solving the selection of immunosuppressive regimens, matching and viral reactivation in xenotransplantation. This aims to open up new avenues for solving the current problems in the field of xenotransplantation and promote its further development.

【Key words】 Organoid-on-a-chip; Xenotransplantation; Organ transplantation; Genetically modified pig; Matching; Immunosuppression; Rejection; Virus

放眼全球，慢性肾病的发病率高达10%，而由于供者稀缺，只有极少部分患者有机会实施器官移植这一终末期肾病最有效的治疗手段。得益于基因修饰技术的突破和免疫抑制药的研发，异种器官移植在临床

上出现了许多突破，但仍然面临诸多困难，包括移植前配型手段缺乏、免疫抑制药使用不当以及移植后可能面临病毒再激活的风险等^[1-2]。类器官芯片作为近年来发展的新型交叉技术，结合了类器官与器官芯

DOI: 10.12464/j.issn.1674-7445.2025082

基金项目：国家重点研发计划（2019YFA0110701）

作者单位：100853 北京，中国人民解放军总医院第三医学中心泌尿外科医学部（林禧龙、孙圣坤）；解放军总医院第四医学中心骨科医学研究所（王玉、彭江）；云南农业大学动物医学院（魏红江）

作者简介：林禧龙（ORCID 0009-0000-3708-0161），硕士研究生，研究方向为异种器官移植和类器官，Email: linxilong301@163.com

通信作者：孙圣坤（ORCID 0000-0002-6463-6425），主任医师，副教授，硕士研究生导师，研究方向为异种器官移植和尿路上皮肿瘤，Email: sunshengkun@301hospital.org

片,整合了3D培养与微流控技术,模拟真实的人体组织微环境,具有高仿真性、可控性、高通量筛选能力。本文在回顾类器官芯片与异种肾移植的发展情况与研究现状基础上,探讨类器官芯片技术在异种器官移植中的应用前景,以期类器官芯片在异种器官移植中的应用提供参考。

1 类器官及类器官芯片

1.1 类器官的来源及其发展

世界上首个类器官是2009年Hans Clevers团队由单个Lgr5⁺干细胞建立的肠道类器官,从此之后它被明确定义为由干细胞经体外三维培养产生的似器官样、具有自我更新和自我组织能力,并且结构和功能与来源组织或器官高度相似的微型器官^[3]。

如今,类器官可以由多能胚胎干细胞及诱导多能干细胞或器官限制性成体干细胞、解离的肿瘤组织形成^[4-5],传统的类器官形成方法依赖哺乳动物干细胞的三维培养,并依次添加生长因子^[6],暴露于各种生长因子和信号下的干细胞被迅速触发分化,形成与三个胚层的细胞、组织相似的结构^[7]。依据细胞分选和空间受限的谱系定型,类器官细胞能够自我组装,形成具有特定功能和结构的组织^[8]。传统的二维细胞培养体系缺乏多维度的细胞-细胞及细胞-基质间相互作用,难以模拟体内复杂的细胞微环境,相比之下,类器官这种三维培养体系通过提供更接近生理条件的多维空间结构有效地改善了这一问题,更好地模拟体内细胞微环境^[9]。

1.2 类器官的局限性

传统的类器官培养方法存在显著局限性,如类器官在批次间的转录变异显著,成熟度也存在差异,导致分析结果不一致^[10]。因为缺乏血管结构,细胞只能通过被动扩散来获得营养、氧气并排除代谢产物,但随着类器官的扩大,弥散程度不足以支持其生长,类器官无法达到体内器官的成熟度^[11]。类器官在形状上是高度可变的,很难将细胞保持一致位置进行扩展分析,并且对细胞的功能分析往往受采样腔内容物的阻碍^[12]。同时,类器官中的细胞很难接触生理性的机械信号,包括张力和压缩、流体剪切应力,这些机械力能影响细胞行为进而影响器官的正常发育,这将导致类器官无法完全模拟人体器官的生理功能^[13]。

1.3 类器官芯片的形成与发展

20多年前便有研究团队设计了包含3个腔室的

细胞培养装置,并通过微流控实现了接近生理学的液体与细胞比例和机械力^[14]。首次标志性研究是2010年Ingber团队模拟了肺泡-毛细血管界面的“肺芯片”^[15]。类器官芯片可被定义为在体外模拟人体器官生理功能的微型细胞培养装置单位^[6],结合了微流控技术与3D细胞培养技术^[9]。与类器官相比,类器官芯片含有特殊的培养室,微流控通道用于营养供应和废物清除,该通道的存在也让类器官芯片有关循环血液和免疫细胞相互作用的研究得以展开。

在活体内的大多数细胞在距离血管超过200 μm就无法存活^[16],因此类器官芯片的血管化研究十分重要。Oliveira等^[17]通过在鸡胚尿囊膜上培养、血管化小鼠胚胎肾脏并且将其转移到体外培养环境中,解决了因血管化不足导致的核心坏死问题。通过动物模型植入虽然能够实现血管化,但血管主要来源于宿主组织,限制了其在人类疾病研究中的应用。Bas-Cristóbal Menéndez等^[18]将人脐静脉内皮细胞培养在微流体通道中,使通道中形成的血管与肾脏类器官中的内源性内皮细胞连接形成开放管腔的血管结构,首次在体外实现了人类来源肾脏类器官的血管化。多器官联合芯片研究也在进行,有研究团队通过平行循环系统将仿生肝小叶和肾近端小管屏障共培养,模拟体内动态微环境和器官间联系,在药物发明和毒性成分筛选中表现出高潜力^[19]。

过去十年里,由于基因修饰和混合细胞培养能力、诱导多能干细胞、微流体、复杂的细胞传感器、3D打印和微加工工程等多项技术的融合发展,类器官芯片得到了快速的发展^[20]。除了脑、肺、心、肾、肠道类器官芯片,女性生殖系统包括子宫、胎盘、卵巢都构建了各自的类器官芯片^[21],表现出极高的应用前景与普适性。

1.4 类器官芯片的优势

类器官芯片的微流控技术有助于克服现有类器官系统面临的各种挑战,通过提供动态三维培养环境、增强血管化和制造功能性水凝胶支架等方式,显著改善了类器官的培养环境和功能^[22]。其中的血管化已经被应用于大脑、心脏、肾脏、肝脏和肠道类器官芯片^[23],它能提供足够的氧气、营养,有利于组织的生长与成熟。

类器官芯片可使用人类的组织和细胞,增强临床相关性和转化潜力,更好地预测相关生理反应^[24]。相较于药物开发常用的动物模型,它能更有效地识别潜

在的新疗法^[25]，并早期识别和验证药物靶点的有效性和安全性。

2 异种器官移植面临的技术瓶颈

器官移植是终末期器官衰竭最有希望的治疗方案^[26]，但目前器官需求量远大于供应量。因此，越来越多的研究人员将目光放到了异种器官移植领域。猪因为繁殖快、器官大小和生理与人类相似且可接受基因修饰，成为异种移植器官的首选来源。随着现代基因工程的发展，基因修饰被用来克服免疫障碍。同时免疫抑制方案仍需要优化，当前临床方案不足以防止异种肾移植中出现的急性排斥反应^[27]，过度的免疫抑制导致的感染并发症也是异种器官移植失败的重要因素^[28]。但当前的免疫抑制药物筛选只能在灵长类动物移植后进行，耗时久、花费高。

当前异种器官移植配型手段尚不成熟，主要借鉴同种器官移植，但即使移植前符合当前配型标准，移植后仍可能出现急性排斥反应^[29]。原因可能包括忽视了自然杀伤细胞、血管内皮细胞的检测^[30-31]，并且主要组织相容性复合体配型也完全缺失，针对猪白细胞抗原的血清学配型手段尚未建立。还有人畜共患病方面的问题，2022年首例基因修饰猪到活体人心脏移植手术尸检显示异种移植心脏中存在猪巨细胞病毒，CRISPR-Cas9技术并没有避免这一传播的发生^[1,32]。可见人畜共患病仍然是异种器官移植生物安全性的潜在威胁，但当前病毒的再激活只能在移植后进行体内检测，代价及成本均很高。

3 类器官芯片在同种及异种器官移植研究中的应用

类器官及类器官芯片技术有助于降低成本，增强实验的可重复性。在同种移植领域已经取得了一系列重要的研究成果，有希望为异种移植领域的瓶颈问题提供解决方案。

3.1 类器官芯片在同种异体器官移植研究中的应用

Aizenshtadt 团队设计了一种能够模拟胰岛和肝脏之间的代谢相互作用的器官芯片，不仅能模拟胰岛移植后的炎症和细胞因子分泌，还能通过胰岛素分泌和葡萄糖代谢评估移植后的功能，优化胰岛移植条件，并通过芯片设计探究胰岛移植后与肝脏的相互作用对胰岛功能的影响^[33-34]。类器官的血管化能力显著提升了移植可行性，预血管化的肝胆管类器官在小鼠体内

成功建立了代谢功能^[35]，而具有功能性血管网络的肾脏类器官则能更真实模拟移植排斥反应^[36]。这种血管化优势结合共培养体系，也为研究内皮细胞在器官移植中的免疫原性提供了新平台^[37]。

Tadokoro 等^[38]发现肝类器官移植给肝纤维化小鼠，能显著改善肝功能和提高小鼠存活率，提示类器官移植有望作为传统器官移植的替代方案，为治疗终末期肝病提供新思路。并且有研究表明，虽然类器官培养会失去原代胆管细胞在胆管树的不同区域表现出的转录多样性，但这些类器官在移植回胆管树后能够恢复其在体内的转录特征，即恢复其区域特异性^[39]。

有研究团队通过胆管类器官移植实验，证实类器官芯片技术能够修复受损器官^[40]，原本因受损而被丢弃的器官将扩大供器官来源^[41]。在移植技术革新方面，水凝胶包埋法实现了肝脏等实体器官的高效移植^[42]，皮肤类器官能够在宿主体内生长并整合到宿主的皮肤中^[43]。这些进展表明，类器官及类器官芯片技术有望作为传统器官移植的替代方案，还能通过修复损伤器官拓展供者库，推动移植医学向精准化、个性化方向发展。

3.2 免疫相关类器官芯片筛选免疫抑制方案

异种器官移植与免疫学密切相关，而类器官及类器官芯片技术已经用于免疫细胞有关的各种实验。B 细胞生长和生发中心样表型无法在体外 2D 培养系统中长期维持^[44]，因此有团队通过构建体外免疫类器官来培养生发中心，显著提升了 B 细胞的增殖速度和生发中心表型分化^[45]。Wong 等^[46]利用微流体通道和水凝胶构建三维细胞微环境培养了两种巨噬细胞样细胞系来研究免疫系统，这也是类器官芯片研究免疫系统的先例。Goyal 等^[47]首次在微流控芯片上培养人源 B 细胞和 T 细胞以形成异位淋巴滤泡，通过动态流体提供营养和氧气，并将树突状细胞整合到芯片中以模拟体内免疫反应。还有研究者将患者来源的肿瘤细胞与免疫细胞在类器官芯片上进行共培养，通过研究它们之间的相互作用评估免疫治疗反应^[48]。在肾脏类器官芯片方面，Kroll 等^[49]让外周血单核细胞在肾类器官芯片管腔内循环，评估 T 细胞介导的细胞毒性。

基因修饰猪已经成为异种器官移植的首选供体，以其为来源的类器官研究也有相关报告。如 He 等^[50]自基因修饰猪体内提取肝细胞，与人脐静脉内皮细胞共培养形成肝细胞类器官。在肾脏类器官方面，有研

究团队用 CRISPR 在造血干细胞中引入 PKD1 或 PKD2 的突变, 诱导培养形成了多囊肾疾病模型^[51]。也有研究团队使用可诱导 CRISPR-Cas9 表达的诱导多能干细胞形成肾脏类器官, 再通过多西环素诱导 Cas9 表达, 可以提高基因修饰效率^[52]。CRISPR 和类器官的结合为各种疾病的研究提供了新的视角和工具, 也有望应用在异种器官移植领域。

类器官芯片技术能对筛选最佳免疫抑制方案提供了革新性的途径。利用人体免疫细胞与基因修饰猪的器官细胞在类器官芯片平台上共培养形成类器官模型, 将不同的免疫抑制药通过微流控系统运输给形成的类器官模型, 提供高通量的免疫抑制药物筛选^[53-54], 这有助于我们筛选最佳的免疫抑制方案。

3.3 类器官芯片辅助异种移植配型

类器官技术已被用于研究排斥反应, Borges 等^[55]从诱导多能干细胞中分化出肾脏类器官, 移植到人源化小鼠中分析移植后的排斥反应。还有研究团队参考人类类器官的培养方案, 从猪幼稚样胚胎干细胞中分化出了猪肾类器官用于研究异种移植排斥反应^[56]。

笔者认为, 将基因修饰猪来源的肾脏细胞进行类器官培养, 经过免疫荧光染色、活细胞成像的检验, 确认培养成类器官后, 再使用以健康志愿者外周血单个核细胞为主的微流控液体在微流控系统中进行循环, 通过观察细胞相互作用以及抗体、补体、细胞因子的变化评估基因修饰的效果, 探究异种器官移植配

型的新可能(图1)。

3.4 利用类器官芯片揭示异种移植后病毒再激活

异种器官移植后免疫抑制药降低了受体的免疫反应, 从而会诱导潜伏的单纯疱疹病毒、乙型肝炎病毒、EB 病毒等再激活。应用类器官研究病毒感染早有先例, 研究人员将大脑类器官暴露于不同的病毒中进行感染实验, 观察病毒对大脑类器官的影响, 探寻潜在的治疗策略^[57]。还可以在类器官的构建中应用 CRISPR-Cas9 技术敲除相关基因, 构建相关基因敲除类器官与普通类器官形成对照, 比较在相同病毒感染条件下的不同反应, 评估相关基因在病毒感染中的具体作用^[58]。

类器官芯片技术还被应用于病毒感染机制研究^[59]。研究人员构建了肠道芯片模型, 让新型冠状病毒株感染细胞进而模拟肠道屏障损伤, 让人们更深入地了解新型冠状病毒感染的病理生理机制并加速相关疗法的研发^[60]。

类器官芯片检测病毒的技术体系, 同样可以通过在芯片上分组让病毒阳性基因修饰猪与病毒阴性基因修饰猪来源的肾脏细胞与人类免疫细胞共培养, 模拟异种肾移植后的人体环境, 并分组通过微流控系统输入不同的免疫抑制药模拟患者异种肾移植后的免疫抑制状态, 观察在不同免疫抑制药下共培养细胞的反应以及病毒本身的状态。通过分析病毒与宿主细胞间的动态交互, 有望能进一步阐明病毒再激活的关键诱

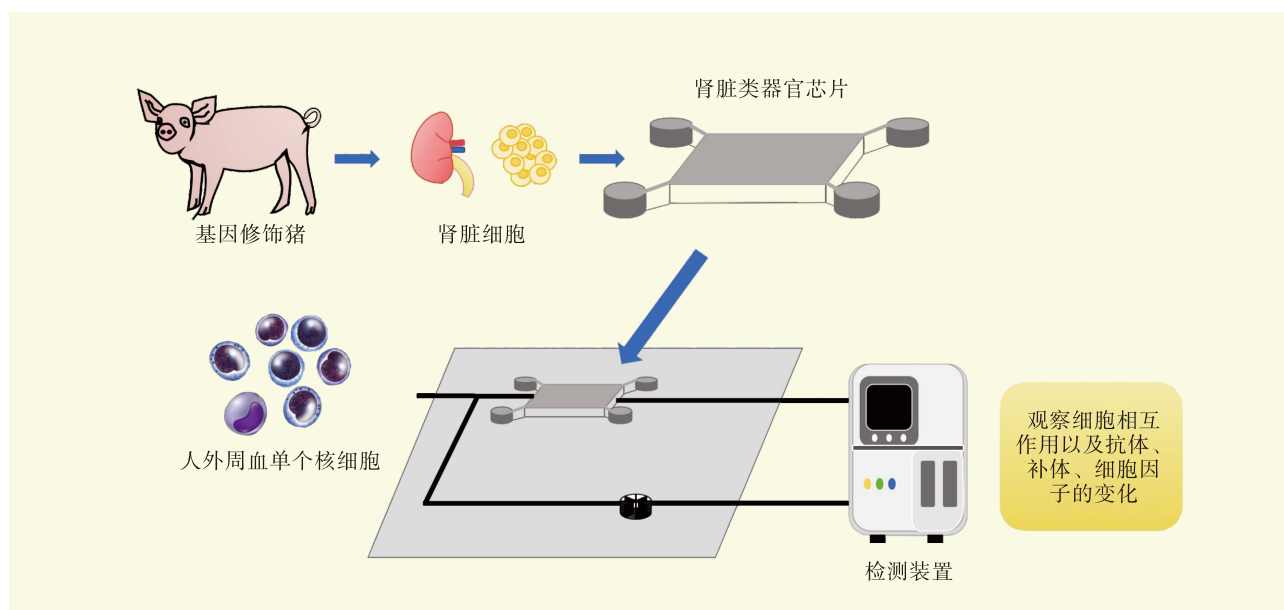


图1 利用类器官芯片开展异种移植中配型的研究

Figure 1 Conduct research on organ typing in xenotransplantation by using organoid-on-chips

因,从而为异种肾移植临床实践中制定更加精准的干预策略奠定科学基础。

4 小 结

综上所述,类器官芯片技术在异种肾移植领域具有重大潜力,利用类器官芯片构建的共培养平台,有望解决临床异种肾移植面临的各种问题。然而,必须明确的是,目前类器官芯片技术处于发展与完善阶段,仍有一些如标准化不足、成像难度大等关键问题需要解决。因此,我们需要多领域共同协作,推进实现类器官芯片技术在异种肾移植领域的应用。

参考文献:

- [1] GRIFFITH B P, GOERLICH C E, SINGH A K, et al. Genetically modified porcine-to-human cardiac xenotransplantation[J]. *N Engl J Med*, 2022, 387(1): 35-44. DOI: 10.1056/NEJMoa2201422.
- [2] MA S, QI R, HAN S, et al. Plasma exchange and intravenous immunoglobulin prolonged the survival of a porcine kidney xenograft in a sensitized, deceased human recipient[J]. *Chin Med J*, 2024, DOI: 10.1097/CM9.0000000000003338[Epub ahead of print].
- [3] SATO T, VRIES R G, SNIPPERT H J, 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.
- [4] 中国抗癌协会. 人胃癌类器官构建、质量控制与保藏团体标准[J]. *中华消化外科杂志*, 2024, 23(6): 761-769. DOI: 10.3760/cma.j.cn115610-20240527-00263. China Anti-Cancer Association. Group standard for the construction, quality control, and preservation of human gastric cancer organoids[J]. *Chin J Dig Surg*, 2024, 23(6): 761-769. DOI: 10.3760/cma.j.cn115610-20240527-00263.
- [5] XU H, JIAO D, LIU A, et al. Tumor organoids: applications in cancer modeling and potentials in precision medicine[J]. *J Hematol Oncol*, 2022, 15(1): 58. DOI: 10.1186/s13045-022-01278-4.
- [6] PARK S E, GEORGESCU A, HUH D. Organoids-on-a-chip[J]. *Science*, 2019, 364(6444): 960-965. DOI: 10.1126/science.aaw7894.
- [7] MCCAULEY H A, WELLS J M. Pluripotent stem cell-derived organoids: using principles of developmental biology to grow human tissues in a dish[J]. *Development*, 2017, 144(6): 958-962. DOI: 10.1242/dev.140731.
- [8] LANCASTER M A, KNOBLICH J A. Organogenesis in a dish: modeling development and disease using organoid technologies[J]. *Science*, 2014, 345(6194): 1247125. DOI: 10.1126/science.1247125.
- [9] HUH D, HAMILTON G A, INGBER D E. From 3D cell culture to organs-on-chips[J]. *Trends Cell Biol*, 2011, 21(12): 745-754. DOI: 10.1016/j.tcb.2011.09.005.
- [10] 王思涵, 裴雪涛, 李艳华. 生物制造领域的机遇与挑战: 发展类器官构建及培养的新技术[J]. *中国生物化学与分子生物学报*, 2023, 39(3): 312-319. DOI: 10.13865/j.cnki.cjbmb.2022.12.1398. WANG S H, PEI X T, LI Y H. Opportunities and challenges in biofabrication: developing new technologies for organoid establishment and culture[J]. *Chin J Biochem Mol Biol*, 2023, 39(3): 312-319. DOI: 10.13865/j.cnki.cjbmb.2022.12.1398.
- [11] YI S A, ZHANG Y, RATHNAM C, et al. Bioengineering approaches for the advanced organoid research[J]. *Adv Mater*, 2021, 33(45): e2007949. DOI: 10.1002/adma.202007949.
- [12] 王曼茜, 李庆豪, 孙娟, 等. 类器官的培养方法及应用前景[J]. *中国畜牧兽医*, 2023, 50(7): 2688-2696. DOI: 10.16431/j.cnki.1671-7236.2023.07.010. WANG M X, LI Q H, SUN J, et al. Culture methods and application prospects of organoids[J]. *China Anim Husb Vet Med*, 2023, 50(7): 2688-2696. DOI: 10.16431/j.cnki.1671-7236.2023.07.010.
- [13] 王宁, 吕文良. 机械力在肝脏类器官形成中的调控作用[J]. *临床肝胆病杂志*, 2023, 39(12): 2952-2958. DOI: 10.3969/j.issn.1001-5256.2023.12.030. WANG N, LÜ W L. Regulatory role of mechanical forces in the formation of liver organoids[J]. *J Clin Hepatol*, 2023, 39(12): 2952-2958. DOI: 10.3969/j.issn.1001-5256.2023.12.030.
- [14] SIN A, CHIN K C, JAMIL M F, et al. The design and fabrication of three-chamber microscale cell culture analog devices with integrated dissolved oxygen sensors[J]. *Biotechnol Prog*, 2004, 20(1): 338-345. DOI: 10.1021/bp034077d.
- [15] HUH D, MATTHEWS B D, MAMMOTO A, et al. Reconstituting organ-level lung functions on a chip[J]. *Science*, 2010, 328(5986): 1662-1668. DOI: 10.1126/science.1188302.
- [16] LOVETT M, LEE K, EDWARDS A, et al. Vascularization strategies for tissue engineering[J]. *Tissue Eng Part B Rev*, 2009, 15(3): 353-370. DOI: 10.1089/ten.TEB.2009.0085.
- [17] OLIVEIRA M, SARKER P P, SKOVORODKIN I, et al. From ex ovo to in vitro: xenotransplantation and vascularization of mouse embryonic kidneys in a microfluidic chip[J]. *Lab Chip*, 2024, 24(20): 4816-4826. DOI: 10.1039/d4lc00547c.
- [18] BAS-CRISTÓBAL MENÉNDEZ A, DU Z, VAN DEN BOSCH T P P, et al. Creating a kidney organoid-vasculature interaction model using a novel organ-on-chip system[J]. *Sci Rep*, 2022, 12(1): 20699. DOI: 10.1038/s41598-022-24945-5.
- [19] HUANG Q, YANG T, SONG Y, et al. A three-dimensional (3D) liver-kidney on a chip with a biomimicking circulating system for drug safety evaluation[J]. *Lab Chip*, 2024, 24(6): 1715-1726. DOI:

- 10.1039/d3lc00980g.
- [20] LOW L A, MUMMERY C, BERRIDGE B R, et al. Organs-on-chips: into the next decade[J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2021, 20(5): 345-361. DOI: 10.1038/s41573-020-0079-3.
- [21] DENG Z M, DAI F F, WANG R Q, et al. Organ-on-a-chip: future of female reproductive pathophysiological models[J]. *J Nanobiotechnology*, 2024, 22(1): 455. DOI: 10.1186/s12951-024-02651-w.
- [22] LIU H, GAN Z, QIN X, et al. Advances in microfluidic technologies in organoid research[J]. *Adv Healthc Mater*, 2024, 13(21): e2302686. DOI: 10.1002/adhm.202302686.
- [23] LI Z, YU D, ZHOU C, et al. Engineering vascularised organoid-on-a-chip: strategies, advances and future perspectives[J]. *Biomater Transl*, 2024, 5(1): 21-32. DOI: 10.12336/biomatertransl.2024.01.003.
- [24] TABIBZADEH N, MORIZANE R. Advancements in therapeutic development: kidney organoids and organs on a chip[J]. *Kidney Int*, 2024, 105(4): 702-708. DOI: 10.1016/j.kint.2023.11.035.
- [25] NITHIN R, AGGARWAL A, SRAVANI A B, et al. Organ-on-a-chip: an emerging research platform[J]. *Organogenesis*, 2023, 19(1): 2278236. DOI: 10.1080/15476278.2023.2278236.
- [26] HU X, HAWTHORNE W J, BUHLER L. The international human xenotransplantation inventory: current data and future directions[J]. *Xenotransplantation*, 2025, 32(1): e70026. DOI: 10.1111/xen.70026.
- [27] WANG Y, CHEN G, PAN D, et al. Pig-to-human kidney xenotransplants using genetically modified minipigs[J]. *Cell Rep Med*, 2024, 5(10): 101744. DOI: 10.1016/j.xcrm.2024.101744.
- [28] MA D, HIROSE T, LASSITER G, et al. Kidney transplantation from triple-knockout pigs expressing multiple human proteins in cynomolgus macaques[J]. *Am J Transplant*, 2022, 22(1): 46-57. DOI: 10.1111/ajt.16780.
- [29] EISENSON D, HISADOME Y, SANTILLAN M, et al. Consistent survival in consecutive cases of life-supporting porcine kidney xenotransplantation using 10GE source pigs[J]. *Nat Commun*, 2024, 15(1): 3361. DOI: 10.1038/s41467-024-47679-6.
- [30] LOPEZ K J, SPENCE J P, LI W, et al. Porcine UL-16 binding protein 1 is not a functional ligand for the human natural killer cell activating receptor NKG2D[J]. *Cells*, 2023, 12(22): 2587. DOI: 10.3390/cells12222587.
- [31] LEE H J, SHIN K H, KIM I Y, et al. Association between anti-endothelial antigen antibodies and allograft rejection in kidney transplantation[J]. *J Clin Lab Anal*, 2023, 37(15/16): e24961. DOI: 10.1002/jcla.24961.
- [32] REGALADO A. The gene-edited pig heart given to a dying patient was infected with a pig virus[J]. *MIT Technol Rev*, 2022, 125(4): 19.
- [33] AIZENSHTADT A, WANG C, ABADPOUR S, et al. Pump-less, recirculating organ-on-chip (rOoC) platform to model the metabolic crosstalk between islets and liver[J]. *Adv Healthc Mater*, 2024, 13(13): e2303785. DOI: 10.1002/adhm.202303785.
- [34] ABADPOUR S, AIZENSHTADT A, OLSEN P A, et al. Pancreas-on-a-chip technology for transplantation applications[J]. *Curr Diab Rep*, 2020, 20(12): 72. DOI: 10.1007/s11892-020-01357-1.
- [35] FAN H, SHANG J, LI J, et al. High-throughput formation of pre-vascularized hiPSC-derived hepatobiliary organoids on a chip via nonparenchymal cell grafting[J]. *Adv Sci*, 2025, 12(8): e2407945. DOI: 10.1002/advs.202407945.
- [36] MAO R, ZHANG J, QIN H, et al. Application progress of bio-manufacturing technology in kidney organoids[J]. *Biofabrication*, 2025, 17(2). DOI: 10.1088/1758-5090/adb4a1.
- [37] PEELEN D M, HOOGDUIJN M J, HESSELINK D A, et al. Advanced in vitro research models to study the role of endothelial cells in solid organ transplantation[J]. *Front Immunol*, 2021, 12: 607953. DOI: 10.3389/fimmu.2021.607953.
- [38] TADOKORO T, MURATA S, KATO M, et al. Human iPSC-liver organoid transplantation reduces fibrosis through immunomodulation[J]. *Sci Transl Med*, 2024, 16(757): eadg0338. DOI: 10.1126/scitranslmed.adg0338.
- [39] SAMPAZIOTIS F, MURARO D, TYSOE O C, et al. Cholangiocyte organoids can repair bile ducts after transplantation in the human liver[J]. *Science*, 2021, 371(6531): 839-846. DOI: 10.1126/science.aaz6964.
- [40] SAMPAZIOTIS F, JUSTIN A W, TYSOE O C, et al. Reconstruction of the mouse extrahepatic biliary tree using primary human extrahepatic cholangiocyte organoids[J]. *Nat Med*, 2017, 23(8): 954-963. DOI: 10.1038/nm.4360.
- [41] VERSTEGEN M M A, COPPES R P, BEGHIN A, et al. Clinical applications of human organoids[J]. *Nat Med*, 2025, 31(2): 409-421. DOI: 10.1038/s41591-024-03489-3.
- [42] ZHANG W, LANZONI G, HANI H, et al. Patch grafting, strategies for transplantation of organoids into solid organs such as liver[J]. *Biomaterials*, 2021, 277: 121067. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2021.121067.
- [43] LEE J, RABBANI C C, GAO H, et al. Hair-bearing human skin generated entirely from pluripotent stem cells[J]. *Nature*, 2020, 582(7812): 399-404. DOI: 10.1038/s41586-020-2352-3.
- [44] PURWADA A, SINGH A. Immuno-engineered organoids for regulating the kinetics of B-cell development and antibody production[J]. *Nat Protoc*, 2017, 12(1): 168-182. DOI: 10.1038/nprot.2016.157.
- [45] PURWADA A, JAISWAL M K, AHN H, et al. Ex vivo engineered immune organoids for controlled germinal center reactions[J]. *Biomaterials*, 2015, 63: 24-34. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2015.06.002.

- [46] WONG A P, PEREZ-CASTILLEJOS R, CHRISTOPHER LOVE J, et al. Partitioning microfluidic channels with hydrogel to construct tunable 3-D cellular microenvironments[J]. *Biomaterials*, 2008, 29(12): 1853-1861. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2007.12.044.
- [47] GOYAL G, PRABHALA P, MAHAJAN G, et al. Ectopic lymphoid follicle formation and human seasonal influenza vaccination responses recapitulated in an organ-on-a-chip[J]. *Adv Sci*, 2022, 9(14): e2103241. DOI: 10.1002/advs.202103241.
- [48] PARLATO S, GRISANTI G, SINIBALDI G, et al. Tumor-on-a-chip platforms to study cancer-immune system crosstalk in the era of immunotherapy[J]. *Lab Chip*, 2021, 21(2): 234-253. DOI: 10.1039/d0lc00799d.
- [49] KROLL K T, MATA M M, HOMAN K A, et al. Immune-infiltrated kidney organoid-on-chip model for assessing T cell bispecific antibodies[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2023, 120(35): e2305322120. DOI: 10.1073/pnas.2305322120.
- [50] HE Y, GAO M, ZHU X, et al. Large-scale formation and long-term culture of hepatocyte organoids from streamlined in vivo genome-edited GGTA1 (-/-) pigs for bioartificial liver applications[J]. *Xenotransplantation*, 2024, 31(4): e12878. DOI: 10.1111/xen.12878.
- [51] CRUZ N M, SONG X, CZERNIECKI S M, et al. Organoid cystogenesis reveals a critical role of microenvironment in human polycystic kidney disease [J]. *Nat Mater*, 2017, 16(11): 1112-1119. DOI: 10.1038/nmat4994.
- [52] SHAMSHIRGARAN Y, JONEBRING A, SVENSSON A, et al. Rapid target validation in a Cas9-inducible hiPSC derived kidney model[J]. *Sci Rep*, 2021, 11(1): 16532. DOI: 10.1038/s41598-021-95986-5.
- [53] ZOU Z, LIN Z, WU C, et al. Micro-engineered organoid-on-a-chip based on mesenchymal stromal cells to predict immunotherapy responses of HCC patients[J]. *Adv Sci*, 2023, 10(27): e2302640. DOI: 10.1002/advs.202302640.
- [54] ZHANG J, TAVAKOLI H, MA L, et al. Immunotherapy discovery on tumor organoid-on-a-chip platforms that recapitulate the tumor microenvironment[J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2022, 187: 114365. DOI: 10.1016/j.addr.2022.114365.
- [55] BORGES T J, GANCHIKU Y, ACEVES J O, et al. Exploring immune response toward transplanted human kidney tissues assembled from organoid building blocks[J]. *iScience*, 2024, 27(10): 110957. DOI: 10.1016/j.isci.2024.110957.
- [56] LI M, GUO X, CHENG L, et al. Porcine kidney organoids derived from Naïve-like embryonic stem cells[J]. *Int J Mol Sci*, 2024, 25(1): 682. DOI: 10.3390/ijms25010682.
- [57] CRAWFORD G, SOPER O, KANG E, et al. Advancing insights into virus-induced neurodevelopmental disorders through human brain organoid modelling[J]. *Expert Rev Mol Med*, 2024, 27: e1. DOI: 10.1017/erm.2024.35.
- [58] KAKIZAKI M, HASHIMOTO R, NAGATA N, et al. The respective roles of TMPRSS2 and cathepsins for SARS-CoV-2 infection in human respiratory organoids [J]. *J Virol*, 2025, 99(1): e0185324. DOI: 10.1128/jvi.01853-24.
- [59] WANG Y, WANG P, QIN J. Human organoids and organs-on-chips for addressing COVID-19 challenges [J]. *Adv Sci*, 2022, 9(10): e2105187. DOI: 10.1002/advs.202105187.
- [60] GUO Y, LUO R, WANG Y, et al. SARS-CoV-2 induced intestinal responses with a biomimetic human gut-on-chip[J]. *Sci Bull*, 2021, 66(8): 783-793. DOI: 10.1016/j.scib.2020.11.015.

(收稿日期: 2025-02-24)

(本文编辑: 方引超 邬加佳)