

# 类器官在泌尿系肿瘤中的研究进展

肖俊文<sup>1</sup>, 胡 坤<sup>2</sup>, 苏港林<sup>3</sup>, 孙 浩<sup>1</sup>, 刘宇辰<sup>1\*</sup>



1. 深圳大学第一附属医院·深圳市第二人民医院广东省泌尿生殖肿瘤系统与合成生物学重点实验室(广东深圳 518000)
2. 安徽医科大学深圳市第二人民医院临床医学院泌尿外科(广东深圳 518000)
3. 汕头大学医学院临床医学系(广东汕头 515041)

**【摘要】**类器官作为新兴的3D体外模型系统,具有保持原有组织基因型和生物学特性的优点,能够一定程度上模拟原位组织中细胞和基质之间的结构关系及模拟发育过程和器官功能。将肿瘤组织用该技术所培养形成的肿瘤类器官,可进一步揭示肿瘤发生、发展、维持过程中的不同信息分子及机制的变化,深入理解肿瘤的发生过程。在泌尿系肿瘤方面,相关实验证明3D类器官技术弥补了传统2D模型培养技术的缺陷,有助于建立泌尿系肿瘤发生的模型和肿瘤表型的分子特征,以发现各种泌尿器官和肿瘤谱系的肿瘤细胞起源的生物标志物。使用类器官为开发创新的疗法、识别诊断或预后的生物标志物、开发筛选系统及制定患者的特异性治疗方式等创造了巨大的可能性。本文主要讲述类器官在常见的泌尿系肿瘤的相关研究进展。

**【关键词】**泌尿系肿瘤;类器官;3D培养;肿瘤研究

## The research and progress of organoid in urinary tumors

Jun-Wen XIAO<sup>1</sup>, Kun HU<sup>2</sup>, Gang-Lin SU<sup>3</sup>, Hao SUN<sup>1</sup>, Yu-Chen LIU<sup>1\*</sup>

1. The First Affiliated Hospital of Shenzhen University, Shenzhen Second People's Hospital, Key Laboratory of Urogenital Tumor System and Synthetic Biology, Shenzhen 518000, Guangdong Province, China
2. Department of Urology, Shenzhen Second People's Hospital, Clinical Medicine College of Anhui Medical University, Shenzhen 518000, Guangdong Province, China
3. Department of Clinical Medicine, Shantou University Medical College, Shantou 515041, Guangdong Province, China

\*Corresponding author: Yu-Chen LIU, E-mail: liuyuchenmdcg@163.com

**【Abstract】**As an emerging 3D in vitro model system, organoids have the advantages of maintaining the original tissue genotype and biological characteristics, and can to some extent simulate the structural relationship between cells and matrix in in-situ tissues, as well as the development process and organ function. The tumor-like organs formed by tumor tissue culture with this technique can further reveal the changes of different information molecules and mechanisms in the process of tumor genesis, development and maintenance, and further understand the process of tumor genesis. In terms of urinary tumors, relevant experiments have proved that the 3D organ-like technology can make up for the defects of the traditional

DOI: 10.12173/j.issn.1004-5511.2020.05.06

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(81773257)

\* 通信作者: 刘宇辰, 博士, 副研究员, 硕士研究生导师, E-mail: liuyuchenmdcg@163.com

2D model culture technology, and help to establish the model of urinary tumorigenesis and the molecular characteristics of the tumor phenotype, so as to discover the biomarkers of the origin of tumor cells in various urinary organs and tumor lineages. Great possibilities have been created for the development of innovative therapies using organoids, the identification of biomarkers for diagnosis or prognosis, the development of screening systems, and the development of patient-specific therapies. This article mainly describes the related research and progress of organoid tumors in common urologic neoplasms.

**【Keywords】** Urologic neoplasms; Organoid; 3D culture; Cancer research

随着荷兰的 Hans Clevers 第一次发表了关于类器官技术的文章后<sup>[1]</sup>, 类器官技术作为新兴的体外培养技术得到了重视。这种三维的器官类型系统可以从细胞系、原发组织、胚胎干细胞、诱导多能干细胞和胚胎整个器官(如由多种组织类型组成的器官外植体)衍生而来<sup>[2]</sup>, 具有自我更新和自我组织的能力。类器官作为一个功能单元, 可以模仿原始组织, 以相似的生物学行为发挥病理或生理作用。产生类器官的方法多种多样, 在泌尿系肿瘤方面的肿瘤类器官研究也不例外。

## 1 研究背景

### 1.1 传统体外培养技术

泌尿系统常见癌症主要为前列腺癌、肾癌及膀胱癌。2018 年全球肿瘤年报中, 男性前列腺癌发病率(所有统计癌症病例)为 7.1%, 居男性癌症发病率第二位, 其次, 膀胱癌及肾癌发病率居于前十, 整体上泌尿系肿瘤在全球发病率呈上升趋势<sup>[3-4]</sup>。泌尿系肿瘤研究领域中, 科学家们以单层细胞培养系统以及动物模型两种常用肿瘤模型为代表, 进行了大量的肿瘤生物学行为研究和试验, 但这种肿瘤生物学研究单纯停留在肿瘤细胞系和动物成瘤模型层面, 无法准确地概括真实的体外器官系统, 且研究中细胞行为也很容易受到微环境等外来因素的影响, 例如细胞外基质<sup>[5]</sup>。

肿瘤细胞系是用来了解基因和分子改变在癌症中作用的常用重要手段<sup>[6]</sup>。自成功开发 HeLa 细胞系以来<sup>[7]</sup>, 癌细胞系对于肿瘤发生的机理研究以及治疗反应标志物的鉴定具有不可估量的价值。但肿瘤细胞系在培养

过程中会出现很多额外的突变, 不能将肿瘤原有特性很好地表现出来, 也不能模拟体内肿瘤细胞和其他基质细胞之间的相互作用, 并且体外培养多次的传代会导致癌细胞失去异质性<sup>[8]</sup>。

与癌细胞系模型相比, 患者来源的异种移植(Patient-derived tumor xenograft, PDX)癌症模型的开发虽然带来了一些改进, 保留了肿瘤异质性<sup>[9]</sup>, 但 PDX 模型仍然具有植入成功率低、不适合高通量筛选及不适合于遗传研究操作的局限性, 这些阻碍了在癌靶向治疗中的发展应用。所以传统的体外 2D 培养系统技术成为了高通量组学研究应用于临床的障碍。

### 1.2 新兴3D类器官发展背景

为了能够体外模拟肿瘤细胞和间质的结构关系及原位组织器官的发育和功能, 三维体外模型系统是一种趋势。泌尿系肿瘤可以通过细胞系或肿瘤干细胞等在一定条件下发育成多种多细胞实体, 可以与体内相似的方式经增殖和分化实现自我更新、自我组织和区分的功能, 进而形成类似体内的肿瘤结构。类器官成功应用于泌尿外科癌症的研究可以进一步了解这些疾病, 创建临床前癌症模型, 通过对个体患者的样品进行治疗性筛选来进一步实现精准医学。例如, 源自人多能干细胞的器官分化使得基因编辑能够模拟上皮细胞中的疾病<sup>[10]</sup>; 前列腺癌类器官可以帮助鉴定肿瘤起始细胞来自上皮细胞谱系<sup>[11]</sup>。人体类器官培养技术在肾脏、膀胱和前列腺疾病的基础和临床研究中具有巨大的潜在应用价值(见图 1)。

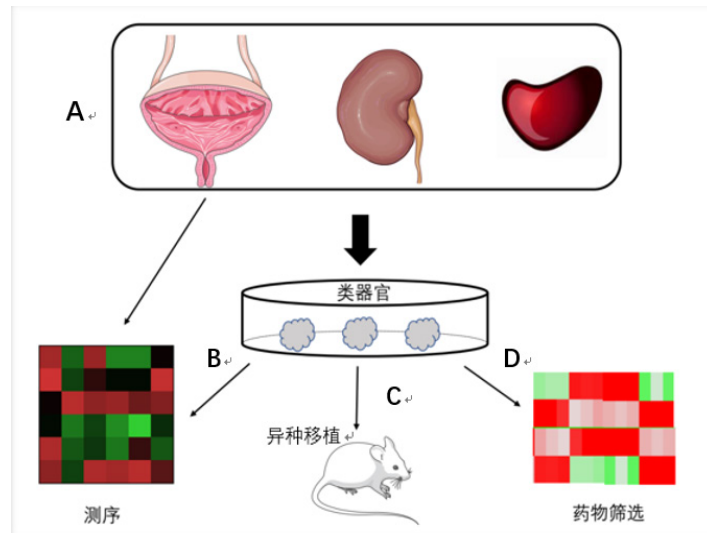


图1 类器官模型

Figure 1. Organoid model

- A. 可有效建立病人衍生的泌尿系肿瘤类器官的生物库 B. 类器官可概述人类泌尿系肿瘤的组织学特点和分子光谱  
 C. 肿瘤类器官组织具有克隆进化的潜力 D. 可以利用类器官在异种移植中验证相关药物反应

## 2 类器官在泌尿系肿瘤的研究进展

### 2.1 前列腺类器官的技术发展

目前对于前列腺癌的许多遗传畸变研究很少，对治疗反应的影响尚不清楚。这主要与缺乏优质体外模型系统有关，而现建立的前列腺癌细胞系数量有限（仅有7个系），不能代表临床疾病的多种表型<sup>[12]</sup>。其次，从治疗层面来看，用于药物筛选、鉴定和开发的传统二维培养系统可能在药物剂量、体内环境相互作用的复杂性和结果对临床的适用性方面存在明显的缺陷。为解决这两个问题，前列腺类器官的相关研究进展使前列腺癌细胞在更复杂和多元的生物培养系统中对大量前列腺癌细胞进行一致性及持续性的原代培养<sup>[13]</sup>。

目前较成熟的前列腺类器官模型包括：鼠正常前列腺组织、人正常前列腺组织<sup>[13]</sup>、前列腺癌患者转移灶样本以及源于去势抵抗性前列腺癌患者循环肿瘤细胞的类器官<sup>[12]</sup>。前列腺癌已经证明很难在体外培养，只有七个公开可用的细胞系。此外，在前列腺癌细胞系中，许多复发性遗传病灶，例如 SPOP 突变、FOXA1 突变、TMPRSS2-ERG 间质缺失和 CHD1 缺失，均未表现出来。这些遗传性病变对前列腺癌也具有高度特异性。这既限制了对这些遗传损伤的机理研究，也限制了它们在治疗反应中的作用。Yu Chen 等<sup>[14]</sup>

使用针对良性前列腺上皮细胞优化的类器官培养系统<sup>[13]</sup>，成功地建立了七个前列腺类器官系统。他们对这七个类器官的系统进行了详细的分子学表征，发现类器官的组织学表现与原始肿瘤组织学高度相似。类器官还表现出来前列腺癌的两大特征：少量体细胞突变及大量的拷贝数改变。这七个系包含许多前列腺癌典型的复发性基因组改变，包括 PTEN 缺失，TMPRSS2-ERG 间质缺失，SPOP 突变，FOXA1 突变和 CHD1 丢失<sup>[12]</sup>，转录组分析表明，这七个系高度多样化，概括了去势抵抗性前列腺癌的表型多样性<sup>[15]</sup>。他们对肿瘤组织进行了全外显子组测序和 RNA 测序，并从中获得了细胞系。结果表明，在体外传代3个月后，这些细胞系与肿瘤具有相同的体细胞突变，并具有相似的转录组，证实了培养出的肿瘤类器官可以代表体内的肿瘤组织。有实验证明，慢病毒与 CRISPR/Cas9 系统的基因编辑等技术也可以在前列腺类器官中进行<sup>[16]</sup>，在研究前列腺癌相关基因方面将发挥巨大作用。可见，前列腺癌的肿瘤类器官可以很好的还原原位组织的基因型和生物学特性，也能在基因研究方面发挥作用，势必将成为前列腺肿瘤研究领域的强有力工具。

### 2.2 肾类器官的技术发展

肾细胞癌为异质性肾癌，在疾病生物学、



临床行为、预后,以及对全身治疗的反应方面均不相同。建立患者来源的肾细胞癌3D类器官培养系统可以克服传统2D培养系统的缺点,弥补体外细胞培养和体内患者来源的异种移植模型之间的差距。

基于诱导多能干细胞,肾脏类器官也已经被建立并应用于相关研究<sup>[17-18]</sup>。Takasato等<sup>[17]</sup>利用小分子抑制剂CHIR99021改变WNT信号,成功诱导出人类多能干细胞。由这些细胞形成的复合多细胞肾类器官,其具有超过八种不同的细胞类型,包括由远端小管组成的分段肾单位、Henle环、近端小管和含有顶叶上皮细胞和足细胞的囊结构及基质细胞。同时观察到毛细血管参与了原始肾小球的血管网络,为研究肾脏血管系统祖细胞的起源提供了有力的工具。Joon Chae Na等<sup>[18]</sup>利用他们先前在肾小管类器官模型中的经验<sup>[19]</sup>建立了晚期肾细胞癌类器官。他们所建立的肿瘤类器官与肾细胞癌组织学的结构相当,类器官细胞集群表现出类似于原始细胞集落的模式,细胞形态的主要特征(丰富的脂质、透明的细胞质和多样的菌落)都在类器官培养中得到了很好的维持。他们还发现,肾癌细胞中常见的生物标志物:CA9、角蛋白和波形蛋白表达水平与原位癌组织相当。Samoylenko等<sup>[20]</sup>利用类器官技术,建立用于癌症基因发现的肾癌类器官。他们利用经典的后肾间充质(MM)肾小管诱导模型<sup>[21]</sup>,比较非诱导性和诱导性MM的转录组谱后,确定了一些相关的特征基因。通过siRNA介导,高效敲除Bnip3、Gsn、Lgals3、Pax8、Cav1、Egfr和Itgb2基因在肾癌细胞中的表达,细胞迁移、细胞活力以及侵袭能力均受到抑制。肾癌的3D培养条件能高效率地复制亲本肿瘤的分子和组织学表型,与患者的预后相关,这可以为肿瘤生物学的基础研究提供解决方案,并有效地评估靶向和针对患者的个性化疗法。

### 2.3 膀胱类器官的技术发展

目前,很少有模型系统能够客观模拟正常尿路上皮和膀胱癌的生物学特性。原代小鼠和人类膀胱细胞的培养已有报道,但由于其寿命较短而受到限制<sup>[22-23]</sup>,科学家们便从

诱导多能干细胞中进行尝试,Osborn等<sup>[24]</sup>开发了一种无基质及细胞接触的体外培养系统,诱导人类多能干细胞进入最终内胚层,于特定的培养基中定向分化成尿路上皮。Kang等<sup>[25]</sup>使用新的分化方法诱导人类多能干细胞分化为内胚层,然后诱导膀胱尿路上皮细胞的产生。但这些并不能很好表现原发肿瘤的特征<sup>[26-27]</sup>。目前已经建立了用于膀胱癌基因小鼠模型和原位异种移植<sup>[28]</sup>,但建立和维护过程却很费时。Jasper Mullenders等<sup>[29]</sup>介绍了小鼠和人类尿路上皮癌类器官的培养系统。他们基于以前发表过的影响尿路上皮培养的生长因子和抑制剂<sup>[30]</sup>,调整出不同培养基条件,建立了膀胱癌基底细胞类器官,该类器官中存在Ck5+细胞(基底细胞存在),且大多数细胞CD44呈阳性(膀胱癌干细胞标记物)。他们还使用了CRISPR/Cas9技术来创建基因敲除的基础尿路上皮类器官。对于人类来源膀胱癌类器官,实验结果证明FGF7和FGF10均足以促进人膀胱癌类器官的生长,提高了效率约50%,延长了传代时间,成功地培养了超过30个传代的多个类器官系。膀胱癌的两个常见亚型是管腔和基底亚型<sup>[31]</sup>,管腔亚型的特征是Ck20+细胞,而基底亚型包含Ck5+细胞<sup>[32]</sup>,基于这些标准,组织学分析发现:有一个样本被归类为腔内膀胱癌,而其他大多数样本则更类似于基底亚型。值得注意的是,源自某一个患者的肿瘤的两个类器官系统之间存在差异:两者中只有一个包含Ck20+细胞。实验证明,作为类器官的肿瘤样品培养是研究肿瘤异质性的资源,人膀胱类器官可根据其基因表达特征进行分类,类似于针对肿瘤样品的研究<sup>[33]</sup>。膀胱癌类器官在功能研究的可行性,以及在类器官培养物中筛选而鉴定出阳性药物,都将有助于进一步指导膀胱内治疗。

### 3 泌尿系肿瘤类器官的相关应用

要在体外研究药物敏感性和耐药性的机制,首先需要癌细胞株满足不易衰老、易于维护、易于高通量筛选和可异种移植等要求<sup>[34]</sup>。3D类器官是一种优化的选择,可用于药物敏感性筛选及识别与肿瘤药物反应改

变相关的分子特征，将药物敏感性与基因组特征联系起来。

Chen Yu 等<sup>[12]</sup>建立7个前列腺癌细胞系（6个活组织样品和1个来自循环肿瘤细胞）。利用DNA的全外显子测序、阵列比较基因组杂交和双端RNA测序对这7个前列腺癌细胞系表征，结果表明患者来源的细胞系具有与肿瘤组织相同的突变。7条细胞系也概括了前列腺癌亚型的分子多样性，包括TMPRSS2-ERG融合、SPOP突变、SPINK1过表达和CHD1丢失。p53和RB抑癌通路功能的缺失是细胞系间最常见的共同特征。为了研究这些细胞系是否适合研究治疗反应，所有7个系都用抗雄激素恩杂鲁胺、PI3K抑制剂和BKM-120治疗。发现类器官细胞系有AR扩增，PTEN丢失和PIK3R1突变的发生，对恩杂鲁胺和PI3K抑制剂均表现出敏感性。Chen Yu和他的同事在此研究基础上<sup>[35]</sup>，使用人工基底膜作为生物支架，首次实现了前列腺癌类器官可以很可靠地实现体外培养，建立良性和恶性前列腺细胞来源的类器官。其中关键的突破点是该系统中的培养基，须达到使良性和恶性前列腺细胞可无限传代的作用。这一突破为高通量药物筛选提供了重要的可能性。

小鼠模型已被用作临床前肾毒性筛查的制药工具。然而，这些模型无法以完全准确的方式概括人类的细胞。因此，需要人源的体外模型进行肾毒性筛查。来自诱导多能干细胞的肾脏类器官已被用于测试肾近端小管的反应（在肾毒性中起重要作用：重吸收作用），例如剂量为5 $\mu$ m的肾毒性药物顺铂<sup>[19]</sup>，结果表明，这药物可诱导近端成熟肾小管细胞发生特异性急性凋亡，但对未成熟肾小管细胞无明显作用。国内赵瀛兰等<sup>[36]</sup>在治疗肾细胞癌方面的研究表明，氯喹（CQ）可增强舒尼替尼的抗肾细胞癌作用（抑制细胞增殖），并提高细胞凋亡率。抑制细胞增殖也可以在舒尼替尼和CQ的协同抗肿瘤作用中起作用。增殖实验方面，经免疫组织化学分析显示，共处理组中代表LC3-II的自噬标记的棕色点状染色增加，表明共处理可以增强舒尼替尼抗肿瘤的活性。

Suk Hyung Lee 等<sup>[37]</sup>为了探索自己建立

的膀胱癌类器官作为药物反应评估的临床前模型的实用性，进行了剂量滴定分析，药物的选择是基于其与膀胱癌治疗的临床相关性，包括正在临床试验中测试的护理标准疗法和研究试剂。结果显示出不同类器官系之间惊人的相似性和差异性，以及它们的变异曲线的部分相关性。例如，有的显示出对MEK抑制剂曲美替尼和ERK抑制剂SCH772984治疗的显著反应，这与FGFR3中存在激活突变一致，但有的含有FGFR3突变，却未显示对曲美替尼或SCH772984的显著应答；所测试的类器官系统均未显示出对三种不同FGFR抑制剂的反应，考虑是缺乏能引起反应的更复杂的刺激因素；他们注意到肿瘤进展与药物反应之间存在相关性，从肌肉浸润癌以及治疗失败后复发的疾病建立的类器官系显示出最大的耐药性。这些结果表明，可以在类器官中验证通过在类器官培养物中筛选而鉴定出的阳性药物反应，原则上可将其用于指导膀胱内治疗。

泌尿系类器官的研究和进展，创造了很多可能性，具有广阔的应用前景。目前，类器官技术存在不具备人体内的肿瘤微环境，缺少人体组织中必要成分，如脉管系统和免疫系统等一些缺陷；不同肿瘤甚至不同亚型肿瘤类器官培养技术复杂，需要进一步研究不同的、个性化、最优化的培养条件，但是类器官技术发展潜力巨大，未来三维有机体培养技术的研究将有助于泌尿系肿瘤发生的建模和肿瘤表型的分子表征，以便发现各种泌尿系器官肿瘤细胞起源的生物标志物以及肿瘤谱系。例如，FONG等<sup>[38]</sup>在研究肝癌类器官方面，创新性用多孔水凝胶代替常用的基质胶建立起了“海绵系统”，能够改善类器官的更高效地保持癌来源组织的特征；微移动阵列（Microarray, MRA）、高内涵筛选（High-content screening, HCS）、CRISPR-Cas9等技术也在不断持续地发展。这些新的系统及技术都可以为泌尿系肿瘤类器官技术的发展开辟新的新思路。

在研究中使用类器官平台为开发新疗法、识别预测或预后的生物标志物、开发筛选系统和识别患者特定的治疗方法创造了令人兴奋的可能性，在未来会使精准医学成为现实。

## 参考文献

- 1 Sato T, Vries RG, Snippert HJ, 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.
- 2 Shamir ER, Ewald AJ. Three-dimensional organotypic culture: experimental models of mammalian biology and disease [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2014, 15(10): 647–664. DOI: 10.1038/nrm3873.
- 3 Siegel R L, Miller K D, Fedewa S A, et al. Colorectal cancer statistics, 2017[J]. *CA: a cancer journal for clinicians*, 2017, 67(3): 177–193. DOI: 10.3322/caac.21395.
- 4 Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. *CA Cancer J Clin*, 2018, 68(6): 394–424. DOI: 10.3322/caac.21492.
- 5 Gattazzo F, Urciuolo A, Bonaldo P. Extracellular matrix: a dynamic microenvironment for stem cell niche[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2014, 1840(8): 2506–2519. DOI: 10.1016/j.bbagen.2014.01.010.
- 6 Garnett MJ, Edelman EJ, Heidorn SJ, et al. Systematic identification of genomic markers of drug sensitivity in cancer cells[J]. *Nature*, 2012, 483(7391): 570–575. DOI: 10.1038/nature11005.
- 7 Njoku DB. The immortal life of Henrietta Lacks[J]. *Anesth Analg*, 2013, 117(1): 286. DOI: 10.1213/ANE.0b013e31828bfec.
- 8 Olivotto M, Dello Sbarba P. Environmental restrictions within tumor ecosystems select for a convergent, hypoxia-resistant phenotype of cancer stem cells[J]. *Cell Cycle*, 2008, 7(2): 176–187. DOI: 10.4161/cc.7.2.5315.
- 9 Hidalgo M, Amant F, Biankin AV, et al. Patient-derived xenograft models: an emerging platform for translational cancer research[J]. *Cancer Discov*, 2014, 4(9): 998–1013. DOI: 10.1158/2159-8290.CD-14-0001.
- 10 Hurtado Del Pozo C, Garreta E, Izpisua Belmonte JC, et al. Modeling epigenetic modifications in renal development and disease with organoids and genome editing[J]. *Dis Model Mech*, 2018, 11(11): dmm035048. DOI: 10.1242/dmm.035048.
- 11 Drost J, Karthaus WR, Gao D, et al. Organoid culture systems for prostate epithelial and cancer tissue[J]. *Nat Protoc*, 2016, 11(2): 347–358. DOI: 10.1038/nprot.2016.006.
- 12 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.
- 13 Karthaus WR, Iaquinata PJ, 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.
- 14 Gao D, Chen Y. Organoid development in cancer genome discovery[J]. *Curr Opin Genet Dev*, 2015, 30: 42–48. DOI: 10.1016/j.gde.2015.02.007.
- 15 Grasso CS, Wu YM, Robinson DR, et al. The mutational landscape of lethal castration-resistant prostate cancer[J]. *Nature*, 2012, 487(7406): 239–243. DOI: 10.1038/nature11125.
- 16 Risbridger GP, Toivanen R, Taylor RA. Preclinical Models of Prostate Cancer: Patient-Derived Xenografts, Organoids, and Other Explant Models[J]. *Cold Spring Harb Perspect Med*, 2018, 8(8): a030536. DOI: 10.1101/cshperspect.a030536.
- 17 Morizane R, Bonventre JV. Generation of nephron progenitor cells and kidney organoids from human pluripotent stem cells[J]. *Nat Protoc*, 2017, 12(1): 195–207. DOI: 10.1038/nprot.2016.170.
- 18 Morizane R, Lam AQ, Freedman BS, et al. Nephron organoids derived from human pluripotent stem cells model kidney development and injury[J]. *Nat Biotechnol*, 2015, 33(11): 1193–1200. DOI: 10.1038/nbt.3392.
- 19 Takasato M, Er PX, Chiu HS, et al. Kidney organoids from human iPS cells contain multiple lineages and model human nephrogenesis[J]. *Nature*, 2016, 536(7615): 238. DOI: 10.1038/nature15695.
- 20 Na JC, Kim JH, Kim SY, et al. Establishment of patient-derived three-dimensional organoid culture in renal cell carcinoma[J]. *Investig Clin Urol*, 2020, 61(2): 216–223. DOI: 10.4111/icu.2020.61.2.216.
- 21 Jun DY, Kim SY, Na JC, et al. Tubular organotypic culture model of human kidney[J]. *PloS one*, 2018, 13(10): e0206447. DOI: 10.1371/journal.pone.0206447.
- 22 Daher A, de Boer WI, Le Frère-Belda MA, et al. Growth, differentiation and senescence of normal human urothelium in an organ-like culture[J]. *Eur Urol*, 2004, 45(6): 799–805. DOI: 10.1016/j.eururo.2004.01.002.
- 23 Southgate J, Hutton KA, Thomas DF, et al. Normal human urothelial cells in vitro: proliferation and induction of stratification[J]. *Laboratory investigation; a journal of technical methods and pathology*, 1994, 71(4): 583–594.
- 24 Osborn SL, Thangappan R, Luria A, et al. Induction of human embryonic and induced pluripotent stem cells into urothelium[J]. *Stem Cells Transl Med*, 2014, 3(5): 610–619. DOI: 10.5966/sctm.2013-0131.
- 25 Kang M, Kim HH, Han YM. Generation of bladder urothelium from human pluripotent stem cells under chemically defined serum- and feeder-free system[J]. *Int J Mol Sci*, 2014, 15(5): 7139–7157. DOI: 10.3390/ijms15057139.



- 26 Earl J, Rico D, Carrillo-de-Santa-Pau E, et al. The UBC-40 Urothelial Bladder Cancer cell line index: a genomic resource for functional studies[J]. *BMC Genomics*, 2015, 16(1): 403. DOI: 10.1186/s12864-015-1450-3.
- 27 NNickerson ML, Witte N, Im KM, et al. Molecular analysis of urothelial cancer cell lines for modeling tumor biology and drug response[J]. *Oncogene*, 2017, 36(1): 35-46. DOI: 10.1038/onc.2016.172.
- 28 Ahmad I, Sansom OJ, Leung HY. Exploring molecular genetics of bladder cancer: lessons learned from mouse models[J]. *Dis Model Mech*, 2012, 5(3): 323-332. DOI: 10.1242/dmm.008888.
- 29 Mullenders J, de Jongh E, Brousalı A, et al. Mouse and human urothelial cancer organoids: A tool for bladder cancer research[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2019, 116(10): 4567-4574. DOI: 10.1073/pnas.1803595116.
- 30 Okuyama H, Yoshida T, Endo H, et al. Involvement of heregulin/HER3 in the primary culture of human urothelial cancer[J]. *J Urol*, 2013, 190(1): 302-310. DOI: 10.1016/j.juro.2012.12.106.
- 31 Aine M, Eriksson P, Liedberg F, Sjö Dahl G, et al. Biological determinants of bladder cancer gene expression subtypes[J]. *Sci Rep*, 2015, 5: 10957. DOI: 10.1038/srep10957.
- 32 Choi W, Porten S, Kim S, et al. Identification of distinct basal and luminal subtypes of muscle-invasive bladder cancer with different sensitivities to frontline chemotherapy[J]. *Cancer Cell*, 2014, 25(2): 152-165. DOI: 10.1016/j.ccr.2014.01.009.
- 33 Choi W, Czerniak B, Ochoa A, et al. Intrinsic basal and luminal subtypes of muscle-invasive bladder cancer[J]. *Nat Rev Urol*, 2014, 11(7): 400-410. DOI: 10.1038/nrurol.2014.129.
- 34 Solit DB, Garraway LA, Pratilas CA, et al. BRAF mutation predicts sensitivity to MEK inhibition[J]. *Nature*, 2006, 439(7074): 358-362. DOI: 10.1038/nature04304.
- 35 Vela I, Chen Y. Prostate cancer organoids: a potential new tool for testing drug sensitivity[J]. *Expert Rev Anticancer Ther*, 2015, 15(3): 261-263. DOI: 10.1586/14737140.2015.1003046.
- 36 Li ML, Xu YZ, Lu WJ, et al. Chloroquine potentiates the anticancer effect of sunitinib on renal cell carcinoma by inhibiting autophagy and inducing apoptosis[J]. *Oncol Lett*, 2018, 15(3): 2839-2846. DOI: 10.3892/ol.2017.7635.
- 37 Lee SH, Hu W, Matulay JT, 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.
- 38 Fong ELS, Toh TB, Lin QXX, 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.

收稿日期: 2020年4月26日 修回日期: 2020年8月4日

本文编辑: 桂裕亮 杨智华