

DOI:10.3872/j.issn.1007-385x.2024.08.001

· 专家论坛 ·

## 免疫类器官在肿瘤免疫研究中的应用与挑战

王雪婷<sup>1,2</sup>, 高春记<sup>1,2</sup>, 张斌<sup>1</sup> (1. 中国人民解放军总医院第五医学中心血液病医学部, 北京 100071; 2. 南开大学医学院, 天津 300071)



**张斌** 医学博士、教授、博士生导师, 解放军总医院第五医学中心血液病医学部研究所副所长, 造血干细胞研究与转化治疗北京市重点实验室主任。研究方向为造血干细胞移植、干细胞研究与转化应用、肿瘤免疫细胞治疗。学术任职包括中国研究型医院学会生物治疗专业委员会副主任委员兼秘书长、中国生物工程学会细胞治疗专业委员会副主任委员。主持“863”计划、“十二五”计划、“十三五”计划研究课题, 军队临床高新技术重大项目, 国家重大新药创制项目, 国家自然科学基金及首都临床特色应用研究项目等多项研究课题。在 *NEJM*、*PNAS*、*Clin Transl Med* 等期刊发表论文 90 余篇 (SCI 收录期刊论文 50 篇), 累计他引 991 次。作为课题主要负责人之一获国家科学技术进步一等奖 1 项, 获授权国家发明专利 5 项。



**高春记** 主任医师、教授、博士生导师, 解放军总医院第五医学中心血液病医学部副主任, 中央保健会诊专家, 任中国抗癌协会血液肿瘤专业委员会副主任委员、中国生物医药技术协会再生医学委员会常务委员、北京医学会转化医学专业委员会副主委、中国抗癌协会血液肿瘤专业委员会造血干细胞移植与细胞治疗组副组长等。中华血液学杂志、中华医学杂志、中国实验血液学杂志、诊断学理论与实践、解放军医学院学报、*Plos ONE*、*JHO*、*Int J Hematol*、*BBMT* 等的编委或评审专家。曾主持“863”、国家自然科学基金等各类科研基金 10 余项; 获得科技进步等奖励 6 项; 发现新基因 6 项, 发现 HLA 新位点 2 个 [被世界卫生组织 (WHO) 命名为 Cw0743 和 B1370]。于国内外期刊发表论文 100 余篇。

**【摘要】** 免疫治疗作为一种快速发展的治疗手段, 使肿瘤治疗发生了革命性的变化, 也使肿瘤免疫学研究领域重新焕发生机。免疫类器官因其能重建肿瘤免疫微环境, 模拟免疫细胞的应答机制和相互作用而成为强有力的工具, 在肿瘤免疫研究中得到了广泛的应用。免疫器官来源的免疫类器官, 肿瘤类器官与免疫细胞共培养的新型免疫类器官模型为肿瘤免疫学研究提供了新的途径, 可应用于肿瘤发生发展机制研究、药物筛选、研发肿瘤疫苗及指导个体化精准治疗等多个领域。本文总结免疫类器官的培养方法与现状, 探讨了免疫类器官在肿瘤免疫中的广泛应用, 对免疫类器官目前存在的不足进行了初步分析并对未来的发展方向进行了展望。

**【关键词】** 免疫类器官; 肿瘤免疫; 免疫疗法; 肿瘤微环境

**【中图分类号】** R73-35; R730.3 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1007-385x(2024)08-0743-09

## Application and challenge of immune-organoid in immuno-oncology

WANG Xueting<sup>1,2</sup>, GAO Chunji<sup>1,2</sup>, ZHANG Bin<sup>1</sup> (1. Senior Department of Hematology, The Fifth Medical Center of PLA General Hospital, Beijing 100071, China; 2. School of Medicine, Nankai University, Tianjin 300071, China)

**【Abstract】** Immunotherapy has emerged as a groundbreaking approach that has revolutionized tumor treatment and revitalized research in tumor immunology. At the forefront of this innovation is immune-organoid, which has become an indispensable tool in tumor immunology research. These models excel in reconstructing the tumor immune microenvironment, faithfully mimicking the response mechanisms and interactions of immune cells. Consequently, they have garnered widespread adoption in tumor immunology research. The innovative immune-organoid models encompass two primary categories: those derived from immune organs and those involving co-cultures of tumor organoids with immune cells. These models offer a versatile platform with applications spanning diverse

**【基金项目】** 军队生物安全项目 (No. 23SWAQ17)

**【作者简介】** 王雪婷 (1996—), 女, 博士生, 主要从事肿瘤免疫与血液系统疾病相关研究。E-mail: wxtingtina@163.com

**【通信作者】** 高春记, E-mail: gaochunji301@163.com; 张斌, E-mail: zb307ctc@163.com

domains, including the elucidation of tumorigenesis mechanisms, drug screening processes, the acceleration of cancer vaccine development, and the guidance of personalized therapeutic strategies. In this review, we provide a comprehensive summary of the current culture methods and status of immune-organoid. We also explore the wide application of immune-organoid in tumor immunology, while addressing the challenges they face and offering insights into future directions for this promising technology.

**[Key words]** immune-organoid; immuno-oncology; immunotherapy; tumour microenvironment (TME)

[Chin J Cancer Biother, 2024, 31(8): 743-751. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2024.08.001]

癌症是全球范围内导致死亡的主要原因之一, 严重威胁着人类的健康<sup>[1]</sup>。2013年, *Science* 杂志将肿瘤免疫疗法评选为年度十大科学突破之首<sup>[2]</sup>, 掀起了肿瘤免疫治疗研究的热潮。肿瘤微环境(tumor microenvironment, TME)对理解肿瘤发生、发展和转移具有重要意义, 从而催生了对模拟肿瘤免疫微环境的实验系统的迫切需求。近年来, 随着体内外培养和模型优化技术的不断进步, 越来越多的模型可以在体外部分重塑TME<sup>[3]</sup>, 最常用的模型为2D细胞模型, 现已有许多成熟的肿瘤细胞系可用于体外实现病毒转导、药物干预和多重药物筛选, 且成本低廉, 易于实现高通量筛选, 但是2D细胞模型并不能反映肿瘤细胞在体内的生长模式及患者来源肿瘤的异质性, 在长期传代培养过程中还可能会发生基因突变和表型变异<sup>[4]</sup>。除此之外, 人源化小鼠模型越来越多地应用于肿瘤免疫学研究, 通过将患者来源的肿瘤细胞植入免疫缺陷小鼠, 模拟体内肿瘤的生长模式及复杂的免疫反应<sup>[5]</sup>。但是由于存在种属差异和伦理问题, 不能完全反应人体的免疫响应的真实过程, 因此应用受限。

随着组织工程和生物材料技术的发展, 新一代的临床前体外模型如类器官(organoid)模型得以开发, 可以重建更加复杂的TME, 为肿瘤免疫研究提供了新的思路。类器官是由干细胞或组织单细胞通过自组装的方式形成的三维细胞复合体, 能够部分模拟人体器官的结构和功能<sup>[6]</sup>, 与细胞模型、小鼠模型等相比, 具有培养体系简单、成本低和效率高等优势。近年来, 利用类器官技术和人类免疫细胞在体外构建具备部分或全部人类免疫功能的“免疫类器官”技术已初见端倪<sup>[7]</sup>。然而, 目前对免疫类器官的概念界定不够明确。WAGAR等<sup>[8]</sup>于2021年在*Nature Medicine*报道了其团队开发的一种由人免疫器官(扁桃体、脾、淋巴结细胞)组成的类器官, 实现了体外模拟人的适应性免疫应答过程。美国斯坦福大学DAO等<sup>[7]</sup>2022年在*Trends Cancer*发表了综述“Immune organoids: from tumor modeling to precision oncology”, 介绍了来自患者的肿瘤类器官模拟肿瘤免疫微环境的不同方法及在免疫治疗中发挥的重要作用。由于单独的肿瘤类器官通常缺乏免疫细胞的参与, 近年来, 研究者们成功地将免疫细

胞引入到肿瘤类器官中, 从而更准确地模拟了肿瘤免疫过程<sup>[9-11]</sup>。

免疫类器官在肿瘤免疫研究中发挥的重要作用不言而喻, 为深入理解免疫系统的调控机制提供了不可或缺的工具。在本文中, 将免疫类器官大致分为来源于免疫器官的类器官, 以及肿瘤类器官与免疫细胞共培养模型, 通过介绍免疫类器官的培养方法及其在肿瘤免疫方面的应用与挑战, 旨在为相关领域的研究者提供有益的参考和启示, 促进免疫类器官的创新发展与应用。

## 1 免疫类器官模型的分类及构建

### 1.1 免疫器官来源的免疫类器官

近年来, 免疫器官来源的免疫类器官已经取得了显著的进展, 通过不断优化培养条件和方法, 可以进一步提高免疫类器官的生理相似性和功能完整性, 为肿瘤免疫相关研究提供更加可靠的工具和平台。目前, 免疫类器官的培养方式主要有3种: 浸没基质胶培养、气液界面培养(air-liquid interface, ALI)及微流控培养(图1)。

#### 1.1.1 浸没基质胶培养

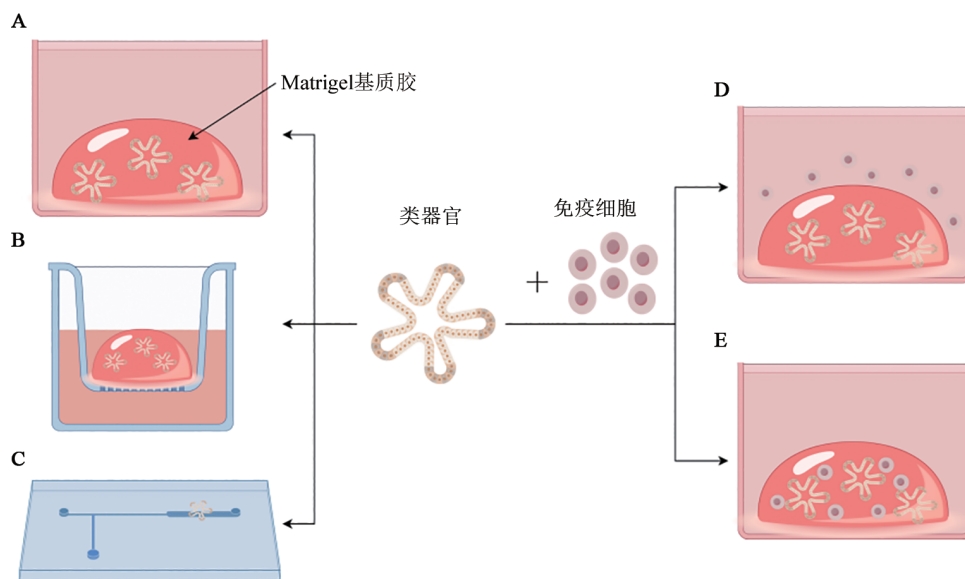
浸没基质胶培养法是类器官培养方式中最早被开发的一种, 通过将类器官构建于基质胶中, 可以为类器官提供支撑骨架, 有助于其形态结构的维持, 同时培养基中还需按类器官生长需求添加不同的生长因子, 以促进类器官增殖发育。KIM等<sup>[12]</sup>用此方法建立了扁桃体上皮细胞衍生的类器官, 通过将分离的扁桃体上皮细胞接种在含Matrigel基质胶的48孔板中, 在37 °C下温育10 min以聚合基质胶, 同时优化了类器官形成培养基及类器官扩增培养基, 利用其作为离体器官的严重急性呼吸综合征冠状病毒2(SARS-CoV-2)感染模型, 为研究SARS-CoV-2的感染性、传播性及评估抗病毒候选药物提供了临床前和转化研究平台。

#### 1.1.2 ALI

ALI是将免疫器官组织物理切割成碎片, 将得到的免疫组织成分置于一个含有可渗透膜的Transwell小室中, 然后将小室置于盛有培养基的细胞培养皿中, 形成双皿培养体系。通过这种方式, 将类器官的上部直接暴露在空气中, 培养基则通过渗

透膜渗入小室底部,从而创建气-液相互作用模型<sup>[13]</sup>。研究者<sup>[8,14]</sup>使用ALI方法开发了一个体外免疫类器官模型,包括淋巴结、扁桃体和脾。他们将这些免疫器官切碎并消化成单个细胞,这些细胞连同相关抗原一起被接种到Transwell小室中。培养数天后,单细

胞重新聚集成一定的组织结构,并且可以在体外模拟淋巴器官的生发中心特征,包括亲和力成熟、体细胞高频突变和抗原特异性抗体的产生,为探索人类对抗感染的体液免疫反应提供了一个令人兴奋的新工具。



A~C:免疫器官来源的免疫类器官培养的3种形式[浸没基质胶培养(A)、ALI(B)、微流控培养(C)];D、E:肿瘤类器官与免疫细胞共培养的2种方法[间接共培养(D)、直接共培养(E)]

图1 免疫类器官培养方式

### 1.1.3 微流控培养

最近,器官芯片技术与类器官的融合使“芯片上类器官”技术得以发展,用于产生更具生理相关性的器官型模型<sup>[15]</sup>。利用微流控技术培养类器官可以通过产生流体剪切力、机械应力、生化浓度梯度等理化刺激,使细胞能够响应这些刺激而发生自组装,展现更加真实的生理学功能<sup>[16]</sup>。目前,该技术已广泛应用于多种类型类器官的构建,如肠类器官<sup>[17-18]</sup>、脑类器官<sup>[19-20]</sup>、胃类器官<sup>[21]</sup>等,相信在不久的将来,通过将免疫类器官与微流控技术的结合能够充分发挥免疫类器官的潜能,构建出先进的生理相关器官模型系统<sup>[22]</sup>。

### 1.2 肿瘤类器官与免疫细胞共培养

肿瘤类器官作为一种肿瘤的离体微缩模型,精准地再现了肿瘤的结构与特征<sup>[23]</sup>,而缺乏包括免疫细胞和成纤维细胞在内的TME是这种新兴方法的主要限制<sup>[24]</sup>。通过与免疫细胞或成纤维细胞共培养为该技术在肿瘤免疫研究中的进一步应用带来了希望<sup>[25]</sup>。目前主要有2种共培养的方法:一种是先建立肿瘤类器官,然后将其与从外周血纯化的免疫细胞共培养的间接共培养;另一种是在建立肿瘤类器官的同时加入免疫细胞的直接共培养方式(图1)。

### 1.2.1 间接共培养

肿瘤类器官与免疫细胞共培养最简单的方法是直接向在Matrigel基质胶中培养的肿瘤类器官里加入外源免疫细胞,通过这种方式,免疫细胞分泌的细胞因子可作用于肿瘤细胞,但两种细胞间的直接接触有限。当免疫细胞具有较高的浸润能力时,也可能进入基质胶与肿瘤细胞直接接触<sup>[3]</sup>。TSAI等<sup>[26]</sup>将从外周血单个核细胞中分离的CD3<sup>+</sup>T细胞加入到胰腺癌类器官培养基中,共培养72h后发现,当基质胶中存在肿瘤类器官时,T细胞会响应胰腺癌细胞的刺激,迁移并浸润到基质胶中;否则,T细胞则大多聚集在边缘形成清晰的边界,这些结果证明了T细胞的肿瘤依赖性迁移。此外,也有研究者利用Transwell进行物理分离以实现肿瘤类器官与免疫细胞间接共培养。JIANG等<sup>[27]</sup>为探究巨噬细胞对肿瘤细胞吉西他滨耐药的影响,在Transwell上层培养巨噬细胞,下层培养胰腺癌类器官,结果显示共培养模型中吉西他滨的半数抑制浓度(IC<sub>50</sub>)高于单培养模型,且流式细胞术检测结果表明巨噬细胞抑制吉西他滨诱导的肿瘤细胞凋亡,证明了巨噬细胞是吉西他滨耐药性的一个促成因素。

### 1.2.2 直接共培养

上述方法更适合研究免疫细胞与肿瘤细胞之间的间接相互作用,因为即使免疫细胞具有较强的迁移和浸润能力,其在培养系统中与肿瘤细胞之间的直接接触仍不充分。此外,Matrigel 基质胶中的成分可能会影响免疫细胞的功能,导致非特异性激活。因此,将类器官从基质中分离出来,再与免疫细胞悬浮混合,有助于研究肿瘤细胞与免疫细胞的直接相互作用。DIJKSTRA 等<sup>[28]</sup>在将结直肠癌及非小细胞肺癌类器官解离成单细胞后与相同患者来源的外周血单个核细胞共培养,2周后可检测到产生了肿瘤特异性T细胞,且对该肿瘤类器官模型有杀伤效果,该研究的发现提供了一种在个体患者水平上评估肿瘤细胞对T细胞介导的攻击的敏感性的方法。

## 2 免疫类器官在肿瘤免疫研究中的应用

免疫类器官在多个领域都有广泛的应用,为深入探究人体免疫系统的奥秘和解决实际医学问题提供了有力工具,目前已成功构建并应用于肿瘤基础研究及临床应用转化等各个方面,如肿瘤免疫机制研究、药物筛选、预测治疗效果、指导个体化精准治疗等领域,为临床治疗提供了有力指导。

### 2.1 探究肿瘤免疫机制

#### 2.1.1 研究肿瘤细胞与免疫细胞间的相互作用

近年来,随着免疫类器官的发展与优化,可以在体外部分重塑TME,有助于揭示肿瘤细胞与免疫细胞的相互作用,从而进一步了解肿瘤的发生发展机制,为寻找新的治疗靶点和探索肿瘤免疫治疗的新方法奠定基础。STRATING 等<sup>[29]</sup>将结直肠癌类器官与肿瘤相关成纤维细胞(cancer-associated fibroblast, CAF)共培养以重建肿瘤免疫微环境,肿瘤细胞和共同培养的CAF之间的相互作用诱导了肿瘤细胞的表型转变,从上皮状态转变为上皮-间充质混合状态,通过对单培养或共培养体系进行分析发现,共培养体系中细胞分泌的TGF- $\beta$ 1、VEGFA和乳酸水平通常比单培养的细胞更高,表明其产生了潜在的免疫抑制微环境,该模型可用于研究免疫抑制的机制,探索针对CAF和肿瘤细胞之间相互作用的治疗策略。SUBTIL 等<sup>[30]</sup>开发并建立了一个结直肠癌类器官与树突状细胞(dendritic cell, DC)共培养系统,通过使用明场和荧光显微镜,观察到未成熟DC包围并吞噬肿瘤细胞/肿瘤细胞衍生片段,通过在共培养物的固定切片中进行CD11c(DC)和PanCK(肿瘤细胞)的免疫荧光染色发现,DC靠近肿瘤类器官边界和内部。最后,通过流式分选法从共培养物中提取DC,发现与肿瘤类器官共培养会影响DC激活标志物的表达及其激

活T细胞的能力。通过调整和优化这种直接的共培养平台,可以更深入地研究肿瘤细胞与DC间的相互作用,从而对肿瘤细胞驱动的DC功能有新的更广泛的认识。ZHAO 等<sup>[31]</sup>通过使用人结直肠癌类器官等模型研究发现,结直肠癌细胞分泌的含有miR-424的细胞外囊泡抑制了肿瘤浸润T细胞和DC中的CD28-CD80/86共刺激途径,破坏T细胞共刺激信号的转导,导致T细胞无法完全激活并产生抗肿瘤应答。上述研究表明,借助免疫类器官技术可进一步探究肿瘤细胞和免疫细胞之间的相互作用,对于发现新的治疗靶点、提高癌症治疗效果、改善患者生存质量和促进生物医学发展具有重要意义。

#### 2.1.2 揭示肿瘤免疫逃逸机制

随着对免疫治疗疗效的认识不断加深,研究人员对肿瘤细胞免疫逃逸机制的认识也越来越深入。2021年美国麻省理工大学的FREED-PASTOR 等<sup>[32]</sup>发表在*Cancer Cell*的一篇文章报道了CD155/TIGIT轴是胰腺癌细胞免疫逃逸的关键驱动因素。研究人员首先开发了一个新抗原表位预测方法,证明了胰腺癌具有高亲和力的MHC I类分子限制性新表位,然后使用表达新抗原的胰腺癌类器官发现在免疫逃逸的预测新表位高负荷模型中CD155高表达,说明CD155/TIGIT轴是维持胰腺癌免疫逃逸所必需的,由此提出了一种联合免疫疗法(TIGIT/PD-1/CD40a),其可以产生显著的抗肿瘤反应,为胰腺癌的治疗带来了新希望。2023年*Nature*上发表的一篇文献<sup>[33]</sup>揭示了阻断TANK结合激酶1(TANK binding kinase 1, TBK1)通路是克服肿瘤免疫治疗耐药性的有效方法。利用已建立的患者来源的肿瘤类器官证明了TBK1的基因缺失使肿瘤对免疫攻击敏感,靶向TBK1通过降低效应细胞因子的细胞毒性阈值来增强对PD-1阻断的反应,从而使肿瘤对免疫治疗的敏感性提高。通过理解肿瘤免疫逃逸机制,可以找到更多有效的策略来规避这些机制,从而获得持久有效的抗肿瘤反应。这对于提高肿瘤免疫治疗的效果,降低复发率和提高患者生存率具有重要意义。

#### 2.2 免疫治疗评估及临床转化研究

肿瘤免疫治疗已成为目前对抗癌症最有前景的策略之一,这些免疫治疗方法可以增强免疫系统的免疫监视作用或局部调节肿瘤免疫微环境,显示出良好的临床疗效。通过免疫类器官可在体外模拟肿瘤免疫反应,对免疫治疗的效果进行评估,从而能更精确地预测免疫疗法在临床实践中的表现,为新疗法的研发和个性化治疗方案的制定提供关键依据。同时,这一模型还能为肿瘤疫苗的研发提供强大的支持,从而为肿瘤患者带来更精准有效的治疗选择。

### 2.2.1 药物筛选及毒性检测

在药物研发过程中,免疫类器官是评估药物对免疫系统影响的重要手段,还可以用于评估药物的毒性作用<sup>[34]</sup>。SACHS等<sup>[35]</sup>构建了乳腺上皮类器官,使用一组靶向HER信号通路的小分子药物处理后进行细胞活性检测,生成了剂量反应曲线并得出确切的IC<sub>50</sub>值,证明了该类器官可实现药物筛选与鉴定。VOTANOPOULOS等<sup>[36]</sup>将同一个患者的淋巴结和黑色素瘤细胞聚集在一起,形成免疫增强型肿瘤类器官,可用于测试抗癌药物疗效。KHAN等<sup>[37]</sup>提出了一种支持血液系统恶性肿瘤患者原代细胞生长的人骨髓类器官,对血液肿瘤中发生的TGF- $\beta$ 诱导的骨髓纤维化进行建模,这种类器官模型将允许同时筛选多种抗癌药物,以及测试针对个体癌症患者的个性化治疗。此外,将免疫类器官与高通量平台相结合可以显著提高药物筛选效率<sup>[38]</sup>。DUAN等<sup>[39]</sup>开发了一组含有常见胰腺癌驱动突变的胰腺类器官来筛选KRAS突变抑制剂,他们将胰腺癌类器官接种到384孔板中,分别加入了6 000种药物后检测细胞活力,最终发现4个化合物(马来酸环己派啉、龙胆紫、克霉唑和来他替尼)对胰腺癌类器官的生长具有剂量依赖性抑制作用。

随着2022年美国出台新法案“美国新药研制不再需要动物试验也可获得美国食品药品监督管理局(FDA)批准”<sup>[40]</sup>,类器官在新药开发和药物敏感性测试中的应用将更加广泛。尽管显示出良好的临床疗效,免疫毒性也是抗癌免疫药物临床应用中不可忽视的一点。2023年*Nat Biomed Eng*杂志上发表的一项研究<sup>[10]</sup>结果表明,患者来源的肠道类器官和肿瘤类器官具备免疫系统,可在临床前阶段有效验证T细胞双特异性抗体的免疫相关肠道毒性。该模型重现了EpCAM和CEA靶向治疗的临床毒性,治疗后会导广泛的类器官凋亡,因此类器官系统可在临床前阶段预测候选药物的毒性,并为药物优化提供指导。为探究癌症治疗相关心脏毒性,WANG等<sup>[41]</sup>成功诱导了多能干细胞分化的心肌细胞,并将这些心肌细胞作为一个体外药物(索拉菲尼、多柔比星)筛选平台来研究肿瘤治疗相关的心脏毒性。因此,通过深入了解药物对免疫系统的影响和药物的毒性作用,不仅提高了药物研发的效率和成功率,还为患者带来了更安全、更有效的治疗选择。

### 2.2.2 临床疗效预测与评估

目前,免疫检查点阻断(immune checkpoint blockade, ICB)疗法相关研究正在如火如荼地进行中,通过阻断T细胞的免疫检查点信号并引发抗癌T细胞反应,显示出卓越的疗效。XUE等<sup>[42]</sup>利用晚期透

明细胞肾细胞癌患者手术切除组织构建了肾癌类器官,对一种PD-1抑制剂——特瑞普利单抗(toripalimab)进行了测试,在5个肾癌类器官中,有3个在特瑞普利单抗处理后CD8<sup>+</sup>/CD4<sup>+</sup>T细胞比值升高,表明ICB疗法挽救了CD8<sup>+</sup>T细胞的过度死亡,逆转了TME免疫耗竭的状态,表明肿瘤类器官是一个预测肾癌免疫治疗反应的有前途和可靠的临床前模型。

过继细胞免疫治疗(adoptive cell transfer therapy, ACT)也是一种精准的、具有更好的临床疗效的治疗方法<sup>[25]</sup>。HUANG等<sup>[43]</sup>建立了一个包含67例宫颈癌类器官的生物库,体外扩增肿瘤浸润淋巴细胞(tumor infiltrating lymphocyte, TIL)并将其与宫颈癌类器官共培养,3 d后检测类器官细胞凋亡和肿瘤特异性TIL激活水平,结果提示, Sqca-45、Sqca-56、Sqca-62和Adca-21类器官对体外配对TIL杀伤试验有反应,而Sqca-39、Sqca-61和Sqca-64无反应,即不同肿瘤特异性TIL在体外的杀伤效率不同。使用流式细胞术和全外显子测序检查免疫细胞分型和肿瘤突变负荷,非反应组的TIL严重缺乏细胞毒性T淋巴细胞,直接导致杀伤效果较弱。上述研究证明了免疫类器官在体外预测ACT疗效方面的潜力。ÖNDER等<sup>[44]</sup>利用适配器CAR-T细胞(adapter chimeric antigen receptor T cell, AdCAR-T)和靶向CD276、HER2、EGFR、TROP2或EpCAM的生物素化单克隆抗体处理患者来源的转移性乳腺癌类器官,共培养后分析发现,AdCAR-T能够根据个体抗原表达模式进行特异性类器官裂解,证明了利用AdCAR-T靶向患者个体化抗原模式的精准免疫疗法的可行性。

### 2.2.3 研发肿瘤疫苗

肿瘤疫苗旨在激活人体自身免疫系统来对抗肿瘤,是肿瘤治疗的一种趋势,正逐渐成为肿瘤治疗领域的研究焦点<sup>[45]</sup>。免疫类器官在肿瘤疫苗的研发、筛选与验证过程中发挥着越来越重要的作用。WANG等<sup>[46]</sup>报道了一种保留了亲本肿瘤的新抗原特征的肝胆肿瘤类器官,通过将匹配的外周血单个核细胞与候选多肽共培养,产生靶向肿瘤类器官的新抗原肽反应性T细胞,可用于未来精确免疫治疗的新抗原肽的有效筛选和快速验证。QIN等<sup>[47]</sup>新开发了一种黑色素瘤相关抗原靶向DNA疫苗,通过肿瘤细胞系、患者来源的类器官和原位胰腺导管腺癌模型验证了该疫苗可以引发针对吉西他滨耐药肿瘤生长的强大免疫反应,为个性化免疫治疗提供了新的可能性。随着免疫类器官技术的不断进步,有望看到更多高效、个性化的肿瘤疫苗问世,为肿瘤患者带来更多治疗选择和希望。

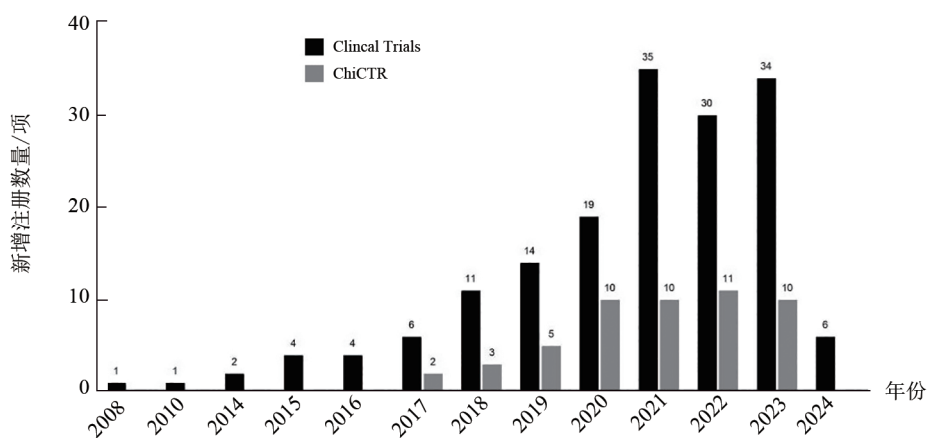
### 2.3 临床试验与个性化精准治疗

截至2024年1月28日,以“Cancer:Organoid”、“类器官”为关键词分别在美国临床试验注册中心(<https://clinicaltrials.gov/>)和中国临床试验注册中心(<http://www.chictr.org.cn/>)进行检索,可分别检索到利用了类器官肿瘤免疫相关临床试验167项和51项。自2017年起,相关临床试验数量呈逐渐增长趋势(图2),主要涉及肿瘤类器官生物库建立、药效评价、免疫治疗的不良反应预测、免疫治疗效果一致性研究等,其中观察性研究102项、干预性研究65项。相关肿瘤研究以乳腺癌、肺癌、结直肠癌居多,此外还涉及到胶质瘤、胃癌、黑色素瘤、胰腺癌、前列腺癌等。30.5%的注册国家为中国,共51项,其次为美国(31项)、荷兰(15项)、法国(15项)、意大利(12项)、英国(8项)等。

丹麦的一项II期、单中心、开放标签的临床试验(NCT03251612)<sup>[48]</sup>招募了90例转移性结直肠癌患者,

对其肿瘤转移部位的活检组织进行培养构建类器官模型,其中44例患者成功构建类器官模型并进行了药物敏感性测试,34例患者根据药物分析结果接受相关药物治疗,中位无进展生存期为67 d [95%CI (51, 108)],中位总生存期为189 d [95%CI (103, 277)]。该临床试验证明通过类器官体外模拟治疗反应可为患者提供个性化治疗策略,使治疗更加精准和有效,展示出类器官模型良好的临床应用前景。

免疫类器官作为肿瘤免疫研究的重要工具,近年来取得的进展令人瞩目。2022年,中国抗癌协会肿瘤标志专业委员会发布了“类器官药物敏感性检测指导肿瘤精准治疗临床应用专家共识(2022年版)”<sup>[49]</sup>,对可用于肿瘤类器官药物敏感性检测的药物类型、肿瘤类器官药物敏感性检测的应用场景、肿瘤类器官药物敏感性检测的一般流程等提供了规范和指导,印证了类器官作为生命科学领域的革命性生物模型,在精准医疗带来巨大的研发应用价值。



Clinical Trials:美国临床试验注册中心;ChiCTR:中国临床试验注册中心。

图2 在中国/美国临床试验数据库注册的利用类器官进行肿瘤免疫研究的临床试验

### 3 存在问题与解决对策

尽管免疫类器官在肿瘤免疫领域具有巨大潜力,但仍面临着一些挑战。首先,模型的仿真性是关键问题之一。由于体外模型的局限性,难以完全模拟体内复杂的生理环境。如在肿瘤类器官-免疫细胞共培养模型中,外部添加的免疫细胞种类有限,且额外添加的免疫细胞在免疫微环境中的状态与原始细胞并不一致,与肿瘤的原始微环境仍存在差异。因此还需优化共培养体系,进一步探索更多种类的免疫细胞在共培养体系中的作用,改进共培养条件,以使免疫细胞在模型中的状态更接近原始状态。其次,免疫器官来源的免疫类器官存活时间较短,一般不超过3周,因此对于一些需数周或数月才能完成的反应可能无法在当前条件下达到完全成熟的状

态<sup>[50]</sup>。因此需要改进培养条件和技术手段,尽可能延长免疫类器官存活时间以扩大其应用范围。此外,免疫类器官模型的重复性和可扩展性也是亟待解决的问题。为了确保实验结果的可靠性和可重复性,需要建立标准化的操作规范和评价体系。同时,结合新的技术和方法可以提高模型的扩展性,如3D生物打印技术、基因编辑技术、单细胞测序技术等,为大规模药物筛选和个性化医疗提供支持。

### 4 结语

免疫类器官,作为新兴的研究工具,其概念和技术体系虽建立不久,却已在肿瘤免疫领域展现出巨大的潜力和价值。尽管当前相关的研究仍处于起步阶段,许多关于肿瘤免疫的深层次问题尚未被完全揭示,但免疫类器官模型无疑为研究者打开了一扇

探索人体免疫反应复杂性和多样性的的大门。

在肿瘤研究中,免疫类器官模型的应用已经展现出了其独特的优势。它们能够模拟人体内的免疫环境,为研究者提供了一个高度可控的实验平台。在这个平台上,研究者可以深入研究免疫响应与肿瘤信号之间的关系,揭示肿瘤免疫逃逸的机制,进而为肿瘤的诊断和治疗提供重要参考。然而,免疫类器官模型的应用也面临着一些挑战和瓶颈。首先,免疫类器官的构建和维持需要可靠的标本来源和复杂的操作步骤,这限制了其在广泛研究中的应用。其次,免疫类器官模型在模拟人体免疫环境时,尚无法完全重现人体内的复杂系统,这在一定程度上影响了其研究结果的准确性。最后,免疫类器官模型在肿瘤免疫治疗中的应用,还需要进一步的临床验证和评估。

随着技术的不断进步和研究的深入,免疫类器官模型在肿瘤研究中的应用将会更加广泛和深入。一方面,可以期待更加高效的免疫类器官构建技术的出现,这将使得免疫类器官模型更加接近真实的人体免疫环境,提高研究结果的准确性。另一方面,可以期待免疫类器官模型在肿瘤免疫治疗中的更多应用,如为患者提供更加个性化的治疗方案、预测患者的治疗反应等。在未来,有望借助免疫类器官技术揭示更多关于人体免疫系统的奥秘,为疾病的预防、诊断和治疗提供更多有效的策略和方法。

**利益冲突声明:**所有作者在此声明,关于提交给《中国肿瘤生物治疗杂志》的综述文章“免疫类器官在肿瘤免疫研究中的应用与挑战”,不存在任何利益冲突需要披露,没有与综述主题相关的经济利益、研究资助、个人关系或其他可能影响研究公正性的因素。若未来发现本声明中存在任何不实之处,作者愿意承担相应的责任,并接受相应的处理。

## 【参考文献】

- [1] LI W X, ZHOU Z H, ZHOU X Y, *et al.* 3D biomimetic models to reconstitute tumor microenvironment in vitro: spheroids, organoids, and tumor-on-a-chip[J/OL]. *Adv Healthc Mater*, 2023, 12(18): e2202609[2024-06-22]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36917657/>. DOI: 10.1002/adhm.202202609.
- [2] COUZIN-FRANKEL J. Breakthrough of the year 2013. *Cancer immunotherapy*[J]. *Science*, 2013, 342(6165): 1432-1433. DOI: 10.1126/science.342.6165.1432.
- [3] MU P Y, ZHOU S J, LV T, *et al.* Newly developed 3D *in vitro* models to study tumor-immune interaction[J/OL]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2023, 42(1): 81[2024-06-22]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37016422/>. DOI: 10.1186/s13046-023-02653-w.
- [4] YUKI K, CHENG N, NAKANO M, *et al.* Organoid models of tumor immunology[J]. *Trends Immunol*, 2020, 41(8): 652-664. DOI: 10.1016/j.it.2020.06.010.
- [5] CHUPRIN J, BUETTNER H, SEEDHOM M O, *et al.* Humanized mouse models for immuno-oncology research[J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2023, 20(3): 192-206. DOI: 10.1038/s41571-022-00721-2.
- [6] LANCASTER M A, KNOBLICH J A. Organogenesis in a dish: modeling development and disease using organoid technologies[J/OL]. *Science*, 2014, 345(6194): 1247125[2024-06-22]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25035496/>. DOI: 10.1126/science.1247125.
- [7] DAO V, YUKI K, LO Y H, *et al.* Immune organoids: from tumor modeling to precision oncology[J]. *Trends Cancer*, 2022, 8(10): 870-880. DOI: 10.1016/j.trecan.2022.06.001.
- [8] WAGAR L E, SALAHUDEEN A, CONSTANTZ C M, *et al.* Modeling human adaptive immune responses with tonsil organoids [J]. *Nat Med*, 2021, 27(1): 125-135. DOI: 10.1038/s41591-020-01145-0.
- [9] JEONG S R, KANG M Y. Exploring tumor-immune interactions in co-culture models of T cells and tumor organoids derived from patients[J/OL]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(19): 14609[2024-06-22]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10572813/>. DOI: 10.3390/ijms241914609.
- [10] HARTER M F, RECALDIN T, GERARD R, *et al.* Analysis of off-tumour toxicities of T-cell-engaging bispecific antibodies via donor-matched intestinal organoids and tumouroids[J]. *Nat Biomed Eng*, 2024, 8(4): 345-360. DOI: 10.1038/s41551-023-01156-5.
- [11] 芦瑜, 席雨梦, 何晓明, 等. 共培养策略在类器官研究中的应用进展 [J]. *中国癌症杂志*, 2023, 33(3): 293-302. DOI: 10.19401/j.cnki.1007-3639.2023.03.014.
- [12] KIM H K, KIM H, LEE M K, *et al.* Generation of human tonsil epithelial organoids as an *ex vivo* model for SARS-CoV-2 infection [J/OL]. *Biomaterials*, 2022, 283: 121460[2024-06-22]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8901203/>. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2022.121460.
- [13] 冯志忧, 李佳, 廖文静, 等. 模拟肿瘤免疫微环境类器官模型的建立及应用研究进展[J]. *空军军医大学学报*, 2023, 44(9): 899-903+909. DOI: 10.13276/j.issn.2097-1656.2023.09.021.
- [14] KASTENSCHMIDT J M, SURESHCHANDRA S, JAIN A, *et al.* Influenza vaccine format mediates distinct cellular and antibody responses in human immune organoids[J/OL]. *Immunity*, 2023, 56(8): 1910-1926.e7[2024-06-22]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10433940/>. DOI: 10.1016/j.immuni.2023.06.019.
- [15] PARK S E, GEORGESCU A, HUH D. Organoids-on-a-chip[J]. *Science*, 2019, 364(6444): 960-965. DOI: 10.1126/science.aaw7894.
- [16] GRASSART A, MALARDÉ V, GOBAA S, *et al.* Bioengineered human organ-on-chip reveals intestinal microenvironment and mechanical forces impacting *Shigella* infection[J/OL]. *Cell Host Microbe*, 2019, 26(4): 565[2024-06-22]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31600505/>. DOI: 10.1016/j.chom.2019.09.007.
- [17] RAJASEKAR S, LIN D S Y, ABDUL L, *et al.* IFlowPlate-a customized 384-well plate for the culture of perfusable vascularized colon organoids[J/OL]. *Adv Mater*, 2020, 32(46): e2002974[2024-06-22]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33000879/>. DOI: 10.1002/adma.202002974.
- [18] SIDAR B, JENKINS B R, HUANG S, *et al.* Long-term flow through human intestinal organoids with the gut organoid flow chip (GOFLOWChip) [J]. *Lab Chip*, 2019, 19(20): 3552-3562. DOI:

- 10.1039/c9lc00653b.
- [19] ZHU Y J, WANG L, YU H, *et al.* *In situ* generation of human brain organoids on a micropillar array[J]. *Lab Chip*, 2017, 17(17): 2941-2950. DOI: 10.1039/c7lc00682a.
- [20] YIN F C, ZHU Y J, WANG Y Q, *et al.* Engineering brain organoids to probe impaired neurogenesis induced by cadmium[J]. *ACS Biomater Sci Eng*, 2018, 4(5): 1908-1915. DOI: 10.1021/acsbomaterials.8b00160.
- [21] LEE K K, MCCAULEY H A, BRODA T R, *et al.* Human stomach-on-a-chip with luminal flow and peristaltic-like motility[J]. *Lab Chip*, 2018, 18(20): 3079-3085. DOI: 10.1039/c8lc00910d.
- [22] WANG Y Q, QIN J H. Advances in human organoids-on-chips in biomedical research[J/OL]. *Life Med*, 2023, 2(1): lnad007 [2024-06-22]. <https://doi.org/10.1093/lifemedi/lnad007>. DOI: 10.1093/lifemedi/lnad007.
- [23] 赖名耀, 李少群, 李新晨, 等. 患者肿瘤组织来源的胶质母细胞瘤类器官的制备方法[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2022, 29(7): 659-664. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2022.07.008.
- [24] 罗建华, 刘秋燕. 肿瘤免疫研究新平台——肿瘤组织微环境类器官研究进展[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2022, 8(2): 142-149. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2022.02.009.
- [25] YUAN J, LI X Y, YU S J. Cancer organoid co-culture model system: Novel approach to guide precision medicine[J/OL]. *Front Immunol*, 2022, 13: 1061388 [2024-06-22]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9877297/>. DOI: 10.3389/fimmu.2022.1061388.
- [26] TSAI S, MCOLASH L, PALEN K, *et al.* Development of primary human pancreatic cancer organoids, matched stromal and immune cells and 3D tumor microenvironment models[J/OL]. *BMC Cancer*, 2018, 18(1): 335 [2024-06-22]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5870823/>. DOI: 10.1186/s12885-018-4238-4.
- [27] JIANG S W, DENG T W, CHENG H, *et al.* Macrophage-organoid co-culture model for identifying treatment strategies against macrophage-related gemcitabine resistance[J/OL]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2023, 42(1): 199 [2024-06-22]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10411021/>. DOI: 10.1186/s13046-023-02756-4.
- [28] DIJKSTRA K K, CATTANEO C M, WEEBER F, *et al.* Generation of tumor-reactive T cells by co-culture of peripheral blood lymphocytes and tumor organoids[J/OL]. *Cell*, 2018, 174(6): 1586-1598.e12 [2024-06-22]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6558289/>. DOI: 10.1016/j.cell.2018.07.009.
- [29] STRATING E, VERHAGEN M P, WENSINK E, *et al.* Co-cultures of colon cancer cells and cancer-associated fibroblasts recapitulate the aggressive features of mesenchymal-like colon cancer[J/OL]. *Front Immunol*, 2023, 14: 1053920 [2024-06-22]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10228738/>. DOI: 10.3389/fimmu.2023.1053920.
- [30] SUBTIL B, IYER K K, POEL D, *et al.* Dendritic cell phenotype and function in a 3D co-culture model of patient-derived metastatic colorectal cancer organoids[J/OL]. *Front Immunol*, 2023, 14: 1105244 [2024-06-22]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36761758/>. DOI: 10.3389/fimmu.2023.1105244.
- [31] ZHAO X D, YUAN C, WANGMO D C, *et al.* Tumor-secreted extracellular vesicles regulate T-cell costimulation and can be manipulated to induce tumor-specific T-cell responses[J]. *Gastroenterology*, 2021, 161(2): 560-574. DOI: 10.1053/j.gastro.2021.04.036.
- [32] FREED-PASTOR W A, LAMBERT L J, ELY Z A, *et al.* The CD155/TIGIT axis promotes and maintains immune evasion in neoantigen-expressing pancreatic cancer[J]. *Cancer Cell*, 2021, 39(10): 1342-1360. DOI: 10.1016/j.ccell.2021.07.007.
- [33] SUN Y, REVACH O Y, ANDERSON S, *et al.* Targeting TBK1 to overcome resistance to cancer immunotherapy[J]. *Nature*, 2023, 615(7950): 158-167. DOI: 10.1038/s41586-023-05704-6.
- [34] HOCKNEY S, PARKER J, TURNER J E, *et al.* Next generation organoid engineering to replace animals in cancer drug testing[J/OL]. *Biochem Pharmacol*, 2023, 213: 115586[2024-06-22]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37164297/>. DOI: 10.1016/j.bcp.2023.115586.
- [35] SACHS N, LIGHT J D, KOPPER O, *et al.* A living biobank of breast cancer organoids captures disease heterogeneity[J]. *Cell*, 2018, 172(1/2): 373-386. DOI: 10.1016/j.cell.2017.11.010.
- [36] VOTANOPOULOS K I, FORSYTHE S, SIVAKUMAR H, *et al.* Model of patient-specific immune-enhanced organoids for immunotherapy screening: feasibility study[J]. *Ann Surg Oncol*, 2020, 27(6): 1956-1967. DOI: 10.1245/s10434-019-08143-8.
- [37] KHAN A O, RODRIGUEZ-ROMERA A, REYAT J S, *et al.* Human bone marrow organoids for disease modeling, discovery, and validation of therapeutic targets in hematologic malignancies[J]. *Cancer Discov*, 2023, 13(2): 364-385. DOI: 10.1158/2159-8290.CD-22-0199.
- [38] YANG R X, YU Y Y. Patient-derived organoids in translational oncology and drug screening[J/OL]. *Cancer Lett*, 2023, 562: 216180 [2024-06-22]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37061121/>. DOI: 10.1016/j.canlet.2023.216180.
- [39] DUAN X H, ZHANG T, FENG L L, *et al.* A pancreatic cancer organoid platform identifies an inhibitor specific to mutant KRAS[J]. *Cell Stem Cell*, 2024, 31(1): 71-88. DOI: 10.1016/j.stem.2023.11.011.
- [40] WADMAN M. FDA no longer has to require animal testing for new drugs[J]. *Science*, 2023, 379(6628): 127-128. DOI: 10.1126/science.adg6276.
- [41] WANG P H, FANG Y H, LIU Y W, *et al.* Merits of hiPSC-derived cardiomyocytes for *in vitro* research and testing drug toxicity[J/OL]. *Biomedicine*, 2022, 10(11): 2764[2024-06-22]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9687838/>. DOI: 10.3390/biomedicine10112764.
- [42] XUE Y Z, WANG B R, TAO Y Y, *et al.* Patient-derived organoids potentiate precision medicine in advanced clear cell renal cell carcinoma[J/OL]. *Precis Clin Med*, 2022, 5(4): pbac028[2024-06-22]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9762875/>. DOI: 10.1093/pccmedi/pbac028.
- [43] HUANG H, PAN Y W, HUANG J M, *et al.* Patient-derived organoids as personalized avatars and a potential immunotherapy model in cervical cancer[J/OL]. *iScience*, 2023, 26(11): 108198 [2024-06-22]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10679865/>. DOI: 10.1016/j.isci.2023.108198.
- [44] ÖNDER C E, MOUSTAFA-OGLOU M, SCHRÖDER S M, *et al.* Precision immunotherapy utilizing adapter CAR-T cells (AdCAR-T) in metastatic breast cancer leads to target specific *Lysis*[J/OL]. *Cancers*, 2023, 16(1): 168[2024-06-22]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10778501/>. DOI: 10.3390/cancers16010168.
- [45] LIU Y X, YAN Q J, ZENG Z Y, *et al.* Advances and prospects of mRNA



- vaccines in cancer immunotherapy[J/OL]. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer*, 2024, 1879(2): 189068[2024-06-22]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38171406/>. DOI: 10.1016/j.bbcan.2023.189068.
- [46] WANG W W, YUAN T G, MA L L, *et al.* Hepatobiliary tumor organoids reveal HLA class I neoantigen landscape and antitumoral activity of neoantigen peptide enhanced with immune checkpoint inhibitors[J/OL]. *Adv Sci*, 2022, 9(22): e2105810[2024-06-22]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9353440/>. DOI: 10.1002/advs.202105810.
- [47] QIN H Q, CHEN J L, BOUCHEKIOUA-BOUZAGHOU K, *et al.* Immunization with a multi-antigen targeted DNA vaccine eliminates chemoresistant pancreatic cancer by disrupting tumor-stromal cell crosstalk[J/OL]. *J Transl Med*, 2023, 21(1): 702[2024-06-22]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10561406/>. DOI: 10.1186/s12967-023-04519-3.
- [48] JENSEN L H, ROGATTO S R, LINDEBJERG J, *et al.* Precision medicine applied to metastatic colorectal cancer using tumor-derived organoids and *in-vitro* sensitivity testing: a phase 2, single-center, open-label, and non-comparative study[J/OL]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2023, 42(1): 115[2024-06-22]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10161587/>. DOI: 10.1186/s13046-023-02683-4.
- [49] 类器官药物敏感性检测指导肿瘤精准治疗临床应用专家共识(年版)编写专家组. 类器官药物敏感性检测指导肿瘤精准治疗临床应用专家共识(2022年版)[J]. *中国癌症防治杂志*, 2022, 14(3): 234-239. DOI: 10.3969/j.issn.1674-5671.2022.03.01.
- [50] WAGAR L E. Human immune organoids: a tool to study vaccine responses[J/OL]. *Nat Rev Immunol*, 2023, 23(11): 699[2024-06-22]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37803237/>. DOI: 10.1038/s41577-023-00956-9.

[收稿日期] 2024-02-20

[修回日期] 2024-06-27

[本文编辑] 黄静怡