

DOI: 10.3969/j.issn.1673-713X.2025.05.008

• 综述 •

肿瘤类器官样本活库的建设及应用进展

周施锦, 安平平, 叶宣宣, 王一然, 范茹玉

【摘要】 在生命科学蓬勃发展的新时代, 类器官作为精准医学领域的新兴技术, 正逐渐成为推动科研进步和医疗突破的关键力量。患者来源的类器官能够再现并稳定保持亲代样本组学特征和生物学行为, 能够反映肿瘤患者个体间和个体内的异质性, 类器官样本活库的构建有利于进行更加全面的肿瘤分子学与生物学研究, 为精准医疗提供有力的模型资源。本文介绍了有关肿瘤类器官样本活库的发展现状及应用进展, 旨在为开展基于类器官的精准医学研究提供有益参考。

【关键词】 生物样本活库; 肿瘤类器官; 研究进展; 精准医疗

中图分类号: R318.1 文献标识码: A

文章编号: 1673-713X (2025) 05-0535-05

The construction and application progress of tumor organoid living biobank

【Abstract】 In the new era of booming development in the life sciences, organoids have emerged as a key technology in the field of precision medicine, driving scientific research progress and medical breakthroughs. Patient-derived organoids have the ability to faithfully reproduce and maintain the omics characteristics and biological behaviors of the original samples, showcasing both inter-patient and intra-patient heterogeneity among tumor patients. Establishing organoid living biobanks is essential for conducting comprehensive tumor molecular and biological studies, offering valuable model resources for precision medicine. This review focuses on the current development status and application progress of tumor organoid living biobanks, providing a useful reference for precision medicine research based on organoids.

【Keywords】 living biobank; tumor organoid; research advances; precision medicine

全球范围内肿瘤发病率和死亡率正在迅速增长, 预计 2040 年全球新发病例将比 2020 年增加 47%, 达 2840 万例^[1]。肿瘤是一种异质性疾病, 肿瘤的遗传学、表观遗传学和生物学行为以及肿瘤微环境的差异性导致了肿瘤的异质性并决定了潜在的治疗靶点和不同的预后^[2-3]。通过建立全面的临床前模型捕捉肿瘤各种亚型特征以及对放疗、靶向治疗和免疫治疗的反应, 有助于理解肿瘤发生和演进规律、设计更加合理有效的个性化治疗方案^[4]。

过去几十年里, 肿瘤研究常用的模型包括细胞系、患者来源的异种移植小鼠模型、基因工程小鼠^[5], 毫无疑问这些模型为肿瘤发生发展机制的探索、药物筛选以及治疗策略优化起到了不可替代的作用。但是这些模型均不可避免地存在着各自的局限性, 如细胞系长期体外培养遗传背景和生物学特性的漂移^[6], 异种移植模型及基因工程小鼠模型的费时、较高成本、难以反映人体的真实情况等^[7], 在一定程度上限制了这些模型的广泛使用。类器官技术的问世, 打破了传统模型的诸多局限性, 为肿瘤研究提供了更加精准、可靠的模型。肿瘤类器官能够保持来源样本的分子特征、表型特征和异质性, 即使经过长期扩增、冻存后类器官-来源样本对之间基因组水平仍然高度相似。包含不同亚型肿瘤样本来源的类器官样本库可以构建全面的肿瘤发生发展谱, 有利于进行更加全面的肿瘤分子学与生物学研究, 为促进肿瘤精准治疗

提供注释良好的模型资源^[8]。

1 肿瘤类器官样本活库

类器官是利用人或模式动物的胚胎干细胞 (多能干细胞)、成体干细胞或肿瘤细胞在体外建立的具有与体内器官相似的结构和功能的复杂 3D 细胞培养物^[9]。类器官具有自我更新和组织能力, 可在一定程度上再现其来源组织的结构和功能, 且能够在体外长期培养中维持结构和基因组的稳定性, 在研究器官发育生物学及遗传学、疾病发生发展机制、精准医疗和再生医学等领域具有巨大应用潜力^[10-13]。患者来源的类器官对肿瘤的研究产生了巨大影响, 类器官能够反映肿瘤患者个体间和个体内的异质性, 每个类器官系都代表一个个体或一类患病人群起源, 包含某种肿瘤广泛分子和组织学亚型的类器官系集合的样本库则能够反映大规模患病群体多样性^[14-15]。建立类器官培养物的样本来源广泛 (如手术切除或活检组织样本、血液^[16]、胸腹水^[16-17]、尿液^[18]、月

基金项目: 海军军医大学远航军事医学人才项目 (2019-YH-09); 国防科技基础加强计划 (2019-JCJQ-JJ-066)

作者单位: 200433 上海, 海军军医大学第一附属医院临床研究中心 (周施锦、安平平、叶宣宣、王一然、范茹玉); 856000 西藏自治区山南市, 中国人民解放军陆军第九五四医院检验科 (安平平)

通信作者: 范茹玉, Email: fanry1997@163.com

收稿日期: 2024-12-25

经血和刷检样本^[19]), 具有所需样本量少、建成时间短、通量大、成功率高、在特定条件下能够长期扩增和保存, 同时保持遗传和表型稳定的特点, 从而为建立类器官样本库奠定了基础。患者来源的肿瘤类器官建立的样本活库可进行长期培养、传代、冷冻保存和复苏, 并保持与原始组织之间形态、组织学、病理学、遗传学、表型和行为特征的一致性^[20], 在推动肿瘤基础研究向临床应用转变方面具有重要价值。

2 肿瘤类器官样本活库的发展现状及应用进展

Hans Clevers 团队于 2009 年利用小鼠小肠 Lgr5⁺ 干细胞成功培养出小肠类器官^[21], 开启了类器官研究的新纪元。2013 年, Hans Clevers 又参与创办了全球最早的类器官研究中心——HUB 样本库。HUB 样本库目前保藏了 1000 余种病变部位和正常组织来源的类器官系, 涉及多个

器官和多种疾病, 包括肿瘤类器官、肿瘤类器官与免疫细胞共培养模型、用于评估药物安全性和毒性及遗传性疾病研究的肝脏类器官、用于研究传染性疾病的正常组织类器官等, 可广泛应用于体外疾病建模、药物研发和筛选、个性化医疗等领域。此后, 类器官这一突破性成果宛如投入科研湖面的巨石, 激起千层浪, 引发全球科学界对类器官领域的深度聚焦与热忱探索。

2.1 类器官的基础研究

在基础研究层面, 各国科研人员纷纷效仿开创性实验范式, 将类器官的构建拓展至多种组织来源。到目前为止, 可以从多种人类上皮组织中构建出长期培养的肿瘤类器官, 如肺^[22]、结肠^[23-24]、肝脏^[25]、胃^[26-27]、胰腺^[17, 28]、肾^[29]、乳腺^[30-31]、卵巢^[32]等, 基于此也创建了多个肿瘤类器官的生物样本活库 (表 1), 科研人员借此深挖肿瘤复杂性根源,

表 1 肿瘤类器官样本库的类型及应用

类型	类器官系数量	类器官系来源及特征	突出工作	文献
肺癌	160	来源于原发灶或转移灶, 包含腺癌、鳞癌、小细胞癌、腺鳞癌、肺肉瘤样癌 5 种常见病理类型	药物敏感性测试表现出时空异质性和临床相关性, 高通量蛋白质组学分析揭示了双靶向治疗的分子机制	[22]
结直肠癌	103	来源于原发灶、肝转移灶和邻近正常肠黏膜, 代表了结直肠癌中常出现的染色体突变, 遗传改变与结直肠癌肿瘤基因组图谱数据基本一致	筛选出具有大治疗指数的候选治疗性双特异性抗体药物, 评估其功能活性并阐明作用机制	[24]
结直肠癌	96	来源于结直肠癌、腺瘤、增生性息肉和无蒂锯齿状腺瘤 (息肉) 和邻近正常肠黏膜, 包含广泛的组织学亚型和临床分期, 遗传改变与结直肠癌肿瘤基因组图谱数据基本一致	设计多种生态位因子组合的培养方案实现以 100% 效率生成类器官, 分析了结直肠癌遗传改变、生态位因子依赖性和生物学表型之间的关联性	[23]
胃癌	63	来源于正常胃黏膜、不典型增生、胃癌和淋巴结转移灶, 涵盖了胃癌的大多数已知分子亚型和不同的疾病进展阶段, 捕获了胃癌的区域异质性和亚克隆结构	破译胃癌分子库, 在有临床意义的时间期限内进行了大规模药物敏感性筛查	[26]
胃癌	44	来源于胃癌、正常胃黏膜和胃黏膜肠化生, 包含各种组织学和遗传亚型, 基因组表征显示各亚型占比与人群分布大致相当	揭示了胃癌基因型和表型之间的关联性和获得生态位独立性的不同遗传和表观遗传途径	[27]
膀胱癌	20	来源于经尿道切除的肿瘤组织样本, 病理类型和分期与患病人群人口统计学特征大体一致, 概括了人类膀胱癌中大多数常见的基因组改变和部分罕见的膀胱癌基因突变类型及组织学亚型	扩增过程中显示出克隆进化, 药物反应分析显示了与突变谱的部分相关性, 并分析了药物作用的信号传导机制和潜在的相加药物应答	[15]
胰腺导管腺癌	39	类器官携带常见的驱动基因改变频率与大规模深度测序分析一致, 包含人类胰腺导管腺癌的各种 Wnt 生态位依赖性	研究了 Wnt 生态位依赖性与基因改变、基因表达和临床进展的相关性和调节机制	[17]
胰腺导管腺癌	66	来源于穿刺活检、手术切除和从多个临床机构收集的快速尸检样本, 包含广泛的疾病阶段, 全面概括了胰腺导管腺癌核心突变谱和临床亚型	在临床有意义的时间范围内为每个类器官系生成药物反应谱, 识别与药物敏感性相关的转录特征	[28]
乳腺癌	107	来源于原发性和转移性乳腺癌, 类器官显示出具有代表性的基因表达谱, 允许分层聚类到大多数基于 RNA 表达的乳腺癌亚型中	捕获乳腺癌组织学和遗传异质性, 进行了高通量药物筛选	[30]
三阴性乳腺癌	28	来源于不同民族 (种族) 背景、年龄阶段和病理学亚型患者的乳腺癌和正常乳腺组织, 重点是高度侵袭性的三阴性乳腺癌亚型, 类器官系突变谱与乳腺癌的突变景观一致	提供了在单细胞水平上对细胞异质性和肿瘤发生机制的见解	[31]
子宫内膜癌	79	不同分型及分期的子宫内膜癌、增生性子宫内膜病变、子宫内膜异位症病变、不同生理期的正常子宫内膜	再现了患者特异性的药物反应和差异性的功能性离子通道表达	[33]
卵巢癌	56	来源于原发肿瘤、转移性病灶和复发性肿瘤, 涵盖了 MBT、SBT、MC、LGS、CCC、END 以及 HGS 等 7 个主要亚型	药物筛选显示卵巢癌类器官的差异性药物反应和临床相关性	[32]

续表 1

类型	类器官系数量	类器官系来源及特征	突出工作	文献
儿童肾癌	101	来源于广泛的儿科肾癌亚型, 特别是非常罕见肾癌亚型和非上皮起源肾癌亚型, 以及配对正常肾组织	对具有 6 种不同浓度的 150 余种化合物库进行功能性筛选	[29]
胃肠道神经内分泌肿瘤	25	7 种消化器官不同亚型 NEN、4 个小细胞肺癌	研究了 GEP-NEN 分子特征与生态位因子独立性等生物学表型之间的关联性	[34]
上尿路上皮癌	31	来源于上尿路上皮癌和癌旁正常组织, 患者性别比例与流行病学特征一致	高通量药物筛选, 并将基于类器官的药物检测与转录组技术相结合用于识别药物敏感与耐受相关分子机制	[35]
胶质母细胞瘤	70	来源于患者肿瘤的不同部位和复发性肿瘤样本, 捕获了与胶质母细胞瘤发病机制相关的主要基因组改变	直接利用新鲜肿瘤组织生成类器官	[36]
肿瘤免疫微环境	100	来源于常见的肿瘤部位(如结肠、胰腺和肺)和独特的疾病亚型(如胆管壶腹腺癌、脑神经鞘瘤和唾液腺多形性腺瘤)	概括了肿瘤组织免疫组分多样性、免疫库谱和免疫检查点, 并成功地模拟了免疫检查点阻断反应	[37]
头颈部鳞状细胞癌	31	来源于不同年龄段患者口腔、咽、喉、唾液腺、鼻腔和颈部的肿瘤样本, 在很大程度上概括了在肿瘤中检测到的遗传改变	测试对常用化疗药物和分子靶向药物的敏感性, 探索了类器官对放疗反应的临床相关性	[38]
膀胱癌	77	来源于基于免疫组织化学和基因表达分析的基底型和管腔型膀胱癌	进行了生态位独立性及药物测试等功能性研究	[39]

解析驱动肿瘤演进的分子机制, 挖掘潜在的生物标志物, 为肿瘤的诊断和治疗开拓全新视角。例如, Kim 等^[40]建立了一个包含来自 5 种最常见的肺癌病理组织学亚型不同分化程度的肺癌类器官系和来自癌旁非癌性支气管黏膜类器官系的样本库, 概括了肺癌的多样性, 通过对药物治疗敏感性、毒性测试及下游信号分子的分析, 表明肺癌类器官可用于预测患者特异性药物反应和开展药物作用机制的概念验证研究。

结直肠癌是一组与遗传和环境危险因素均密切相关, 由基因序列和基因表达模式改变逐步累积而导致的临床表现和预后各不相同的异质性疾病, 每种亚型中都有特定的肿瘤驱动因素组合^[23, 41]。作为 HUB 类器官样本库的组成部分, van de Wetering 等^[42]最先报道了一个由结直肠癌类器官系和相邻正常结肠类器官系组成的样本库, 对 83 种药物组合进行高通量药物筛选并分析基因改变与药物敏感性之间的关联。在此基础上, Herpers 等^[24]进一步拓展了该样本库的规模, 利用多种基因型和表型的结直肠癌类器官及来自同一患者的健康类器官, 筛选出具有大治疗指数的候选治疗性双特异性抗体药物 MCLA-158, 评估其功能活性并阐明作用机制。MCLA-158 现已在患者群体中开展临床评价, 揭示了类器官样本库在药物发现方面的潜力。

胃癌是一种分子和表型高度异质性疾病, 其普遍存在的异质性阻碍了在个体水平上基因型-表型相关性的研究和治疗药物的开发。Nanki 等^[27]建成了一个包含 37 个患者来源胃癌类器官系的样本库, 其中还包含 6 个无幽门螺杆菌感染的正常胃类器官和 1 个胃黏膜肠化生类器官, 胃癌类器官的密集表征揭示了胃癌基因型和表型之间的关联性并通过基因工程、异种移植和药物测试进一步验证。表型分析揭示了胃癌获得生态位独立性的不同遗传和表观遗传途径, 表明基于类器官样本库的基因型-表型策略在深入研究人类肿瘤

方面的有效性。

此外, 还有上尿路上皮癌^[35]、胃肠道神经内分泌肿瘤^[34]等罕见肿瘤样本库的建设, 以及通过肿瘤类器官与免疫细胞、成纤维细胞等肿瘤基质成分共培养构建的肿瘤微环境类器官样本库等, 展示出基于类器官的疾病模型在罕见病以及肿瘤微环境研究中的有效性^[12]。

2.2 类器官的临床转化

2023 年 *Science* 发文, FDA 不再要求在药物临床试验前进行动物试验, 而是推荐使用类器官等其他非动物方法^[43], 促使类器官在临床应用上不断取得突破性进展。医生借助类器官在体外高效开展药物敏感性测试, 为患者精准匹配高效、低毒方案, 延长生存期^[44]。Chen 等^[45]报告了一例 59 岁的女性卵巢癌复发病例, 采用腹腔穿刺术从腹水中构建患者自身卵巢癌类器官, 同时对类器官进行药物敏感性筛查, 治疗后患者 CA125 水平显著下降, 病情有效缓解, 提示类器官在患者个性化精准治疗中的潜力。此外, 类器官在罕见病研究中的作用同样不可忽视。罕见病有限的标本数量不仅增加了研究的难度, 而且也缺乏可以概括所涉及组织复杂结构的实验模型, 而根据患者的遗传背景建立的类器官模型有助于更深入地了解罕见病发生的进展机制。已有多项研究构建了用于神经系统^[46]、囊性纤维化^[47]等罕见疾病的类器官模型, 填补了传统细胞模型无法还原疾病复杂性的空白。

2.3 类器官的技术迭代

传统的类器官培养体系仍采用人工操作的模式, 不同实验室之间以及同一实验室的不同培养批次间存在很大差异, 导致类器官的质量和特性不稳定, 成为限制类器官应用和转化的重要原因之一。因此, 实现类器官的均一化、标准化培养具有重要意义。研究人员通过将类器官培养技术与微流控芯片^[48]、人工智能技术^[49]等相结合, 成功打造了自动化、

微型化、智慧化、动态化的培养体系,提高了类器官培养的稳定性,具有高度模拟肿瘤微环境、动态监测药物反应、高通量药物筛选、多类器官相互作用等优势^[50-51],拓展了类器官从实验室迈向临床转化的道路。例如, Jiang 等^[52]开发了一个自动化的类器官平台,细胞与基质胶混合后通过微流体液滴打印机依次向培养孔中点样,获得的类器官保留了亲本肿瘤中 97% 的基因突变,并反映了患者对药物反应和敏感性的差异,实现了类器官培养的均一性、高通量和自动化。Bian 等^[53]提出了一种新的深度神经网络,人工智能可以在培养过程中动态捕获和跟踪类器官随时间变化的轨迹,包括类器官的不规则运动、形态变化和生长动力学,实现了类器官多维特征的高效、准确分析。

3 总结与展望

类器官维持正常遗传和表观遗传状态的能力及扩增过程中的保真度,为疾病建模、药物筛选、发现新型潜在治疗方法和个性化医疗决策等提供了强有力的模型系统。高质量的类器官模型是研究应用的基础,器官培养的效率和质量受来源样本质量、培养和运输过程中的操作等多个因素影响,因此必须建立一套涉及政策法规、技术标准、标准操作规范、质量控制标准、信息化管理等全方位的质量管理体系,以保证类器官的高效、合理、高质量应用,助力生命科学与精准医学的发展。

同时,类器官技术的挑战与机遇并存。重复性和一致性是类器官技术的一大瓶颈,类器官在疾病建模中的准确性和可靠性还有待提升,这在一定程度上限制了类器官的临床转化,但这些挑战也预示着类器官技术未来的发展方向。实现类器官培养技术与自动化、高通量、精细化、人工智能等技术的结合也是其技术发展的趋势,技术的发展革新同样也会改善类器官的临床应用问题。通过提高类器官的均一性、仿真度和复杂性,同时结合临床患者数据对类器官模型进行验证和优化,类器官一定能够更好地模拟体内各组织器官的真实情况,提高类器官模型的临床相关性,在精准医疗领域将大有可为。类器官技术的发展标志着人类在理解生命复杂系统、探索疾病治疗新策略上取得了重要进展,预示着未来医学研究和治疗将更加精准、高效,为人类健康带来无限可能。

参考文献

- [1] Sung H, Ferlay J, Siegel RL, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. *CA Cancer J Clin*, 2021, 71(3):209-249.
- [2] Pe'er D, Ogawa S, Elhanani O, et al. Tumor heterogeneity[J]. *Cancer Cell*, 2021, 39(8):1015-1017.
- [3] Vitale I, Shema E, Loi S, et al. Intratumoral heterogeneity in cancer progression and response to immunotherapy[J]. *Nat Med*, 2021, 27(2):212-224.
- [4] Dagogo-Jack I, Shaw AT. Tumour heterogeneity and resistance to cancer therapies[J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2018, 15(2):81-94.
- [5] Namekawa T, Ikeda K, Horie-Inoue K, et al. Application of prostate cancer models for preclinical study: advantages and limitations of cell lines, patient-derived xenografts, and three-dimensional culture of patient-derived cells[J]. *Cells*, 2019, 8(1):74.
- [6] Hausser HJ, Brenner RE. Phenotypic instability of Saos-2 cells in long-term culture[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2005, 333(1):216-222.
- [7] Yoshida GJ. Applications of patient-derived tumor xenograft models and tumor organoids[J]. *J Hematol Oncol*, 2020, 13(1):4.
- [8] Schutgens F, Clevers H. Human organoids: tools for understanding biology and treating diseases[J]. *Annu Rev Pathol*, 2020, 15:211-234.
- [9] Lancaster MA, Knoblich JA. Organogenesis in a dish: Modeling development and disease using organoid technologies[J]. *Science*, 2014, 345(6194):1247125.
- [10] Clevers H. Modeling development and disease with organoids[J]. *Cell*, 2016, 165(7):1586-1597.
- [11] Rossi G, Manfrin A, Lutolf MP. Progress and potential in organoid research[J]. *Nat Rev Genet*, 2018, 19(11):671-687.
- [12] Bar-Ephraim YE, Kretzschmar K, Clevers H. Organoids in immunological research[J]. *Nat Rev Immunol*, 2020, 20(5):279-293.
- [13] Kretzschmar K, Clevers H. Organoids: modeling development and the stem cell niche in a dish[J]. *Dev Cell*, 2016, 38(6):590-600.
- [14] Seidlitz T, Stange DE. Gastrointestinal cancer organoids-applications in basic and translational cancer research[J]. *Exp Mol Med*, 2021, 53(10):1459-1470.
- [15] 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.
- [16] Gao D, Vela I, Sboner A, et al. Organoid cultures derived from patients with advanced prostate cancer[J]. *Cell*, 2014, 159(1):176-187.
- [17] Seino T, Kawasaki S, Shimokawa M, et al. Human pancreatic tumor organoids reveal loss of stem cell niche factor dependence during disease progression[J]. *Cell Stem Cell*, 2018, 22(3):454-467.
- [18] Schutgens F, Rookmaaker MB, Margaritis T, et al. Tubuloids derived from human adult kidney and urine for personalized disease modeling[J]. *Nat Biotechnol*, 2019, 37(3):303-313.
- [19] Sartini S, Soragni A. Cervical organoids go viral[J]. *Cell Stem Cell*, 2021, 28(8):1337-1338.
- [20] Yu YY, Zhu YJ, Xiao ZZ, et al. The pivotal application of patient-derived organoid biobanks for personalized treatment of gastrointestinal cancers[J]. *Biomarker Res*, 2022, 10(1):73.
- [21] 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.
- [22] Wang HM, Zhang CY, Peng KC, et al. Using patient-derived organoids to predict locally advanced or metastatic lung cancer tumor response: a real-world study[J]. *Cell Rep Med*, 2023, 4(2):100911.
- [23] 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.
- [24] Herpers B, Eppink B, James MI, et al. Functional patient-derived organoid screenings identify MCLA-158 as a therapeutic EGFR × LGR5 bispecific antibody with efficacy in epithelial tumors[J]. *Nat Cancer*, 2022, 3(4):418-436.
- [25] Liu Y, Sheng JY, Yang CF, et al. A decade of liver organoids: advances in disease modeling[J]. *Clin Mol Hepatol*, 2023, 29(3):643-669.
- [26] Yan HHN, Siu HC, Law S, et al. A comprehensive human gastric cancer organoid biobank captures tumor subtype heterogeneity and enables therapeutic screening[J]. *Cell Stem Cell*, 2018, 23(6):882-897.

- [27] Nanki K, Toshimitsu K, Takano A, et al. Divergent routes toward Wnt and R-spondin niche independency during human gastric carcinogenesis[J]. *Cell*, 2018, 174(4):856-869.
- [28] Tiriach H, Belleau P, Engle DD, et al. Organoid profiling identifies common responders to chemotherapy in pancreatic cancer[J]. *Cancer Discov*, 2018, 8(9):1112-1129.
- [29] Calandrini C, Schutgens F, Oka R, et al. An organoid biobank for childhood kidney cancers that captures disease and tissue heterogeneity[J]. *Nat Commun*, 2020, 11(1):1310.
- [30] Sachs N, De Ligt J, Kopper O, et al. A living biobank of breast cancer organoids captures disease heterogeneity[J]. *Cell*, 2018, 172(1):373-386.
- [31] Bhatia S, Kramer M, Russo S, et al. Patient-derived triple-negative breast cancer organoids provide robust model systems that recapitulate tumor intrinsic characteristics[J]. *Cancer Res*, 2022, 82(7):1174-1192.
- [32] Kopper O, de Witte CJ, Löhmußsaar K, et al. An organoid platform for ovarian cancer captures intra- and interpatient heterogeneity[J]. *Nat Med*, 2019, 25(5):838-849.
- [33] Boretto M, Maenhoudt N, Luo X, et al. Patient-derived organoids from endometrial disease capture clinical heterogeneity and are amenable to drug screening[J]. *Nat Cell Biol*, 2019, 21(8):1041-1051.
- [34] Kawasaki K, Toshimitsu K, Matano M, et al. An organoid biobank of neuroendocrine neoplasms enables genotype-phenotype mapping[J]. *Cell*, 2020, 183(5):1420-1435.
- [35] Li Z, Xu H, Gong Y, et al. Patient-derived upper tract urothelial carcinoma organoids as a platform for drug screening[J]. *Adv Sci*, 2022, 9(4):2103999.
- [36] Jacob F, Salinas RD, Zhang DY, et al. A patient-derived glioblastoma organoid model and biobank recapitulates inter- and intra-tumoral heterogeneity[J]. *Cell*, 2020, 180(1):188-204.
- [37] Neal JT, Li X, Zhu J, et al. Organoid modeling of the tumor immune microenvironment[J]. *Cell*, 2018, 175(7):1972-1988.
- [38] Driehuis E, Kolders S, Spelier S, et al. Oral mucosal organoids as a potential platform for personalized cancer therapy[J]. *Cancer Discov*, 2019, 9(7):852-871.
- [39] 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 U S A*, 2019, 116(10):4567-4574.
- [40] Kim M, Mun H, Sung CO, et al. Patient-derived lung cancer organoids as in vitro cancer models for therapeutic screening[J]. *Nat Commun*, 2019, 10(1):3991.
- [41] Dekker E, Tanis PJ, Vleugels JLA, et al. Colorectal cancer[J]. *Lancet*, 2019, 394(10207):1467-1480.
- [42] van de Wetering M, Francies HE, Francis JM, et al. Prospective derivation of a living organoid biobank of colorectal cancer patients[J]. *Cell*, 2015, 161(4):933-945.
- [43] Wadman M. FDA no longer has to require animal testing for new drugs agency can rely on animal-free alternatives before human trials[J]. *Science*, 2023, 379(6628):127-128.
- [44] Pauli C, Hopkins BD, Prandi D, et al. Personalized in vitro and in vivo cancer models to guide precision medicine[J]. *Cancer Discov*, 2017, 7(5):462-477.
- [45] Chen W, Fang PH, Zheng B, et al. Effective treatment for recurrent ovarian cancer guided by drug sensitivity from ascites-derived organoid: a case report[J]. *Int J Womens Health*, 2023, 15:1047-1057.
- [46] Bombieri C, Corsi A, Trabetti E, et al. Advanced cellular models for rare disease study: exploring neural, muscle and skeletal organoids[J]. *Int J Mol Sci*, 2024, 25(2):1014.
- [47] Akbaba TH, Bekircan-Kurt CE, Balci-Peynircioglu B, et al. Biologia futura: the importance of 3D organoids-a new approach for research on neurological and rare diseases[J]. *Biol Futura*, 2021, 72(3):281-290.
- [48] Zeng X, Ma Q, Li XK, et al. Patient-derived organoids of lung cancer based on organoids-on-a-chip: enhancing clinical and translational applications[J]. *Front Bioeng Biotechnol*, 2023, 11:1205157.
- [49] Wang H, Li X, You X, et al. Harnessing the power of artificial intelligence for human living organoid research[J]. *Bioact Mater*, 2024, 42:140-164.
- [50] Yuki K, Cheng N, Nakano M, et al. Organoid models of tumor immunology[J]. *Trends Immunol*, 2020, 41(8):652-664.
- [51] Schuster B, Junkin M, Kashaf SS, et al. Automated microfluidic platform for dynamic and combinatorial drug screening of tumor organoids[J]. *Nat Commun*, 2020, 11(1):5271.
- [52] Jiang S, Zhao H, Zhang W, et al. An automated organoid platform with inter-organoid homogeneity and inter-patient heterogeneity[J]. *Cell Rep Med*, 2020, 1(9):100161.
- [53] Bian X, Li G, Wang C, et al. A deep learning model for detection and tracking in high-throughput images of organoid[J]. *Comput Biol Med*, 2021, 134:104490.