

结直肠癌类器官模型的建立及影响培养成功率的因素分析

薛娜^{1,2,3,4} 韩冰⁵ 吴问汉⁵ 李艳霞^{2,3,4} 邢国强⁵ 郑洁⁶

张树朋⁵ 冯庆国¹ 王晴¹ 郭丽艳¹

天津市第五中心医院¹重症医学,²中心实验室,³天津市早产儿器官发育表观遗传重点实验室,天津 300450;

⁴黄南藏族自治州人民医院,天津滨海黄南高原医学研究所,青海黄南藏族自治州 811399;天津市第五中心

医院⁵普外科,⁶病理科,天津 300450

通信作者:郭丽艳,Email:1570714949@qq.com

【摘要】 目的 探讨类器官技术在结直肠癌研究中的应用,并分析影响其培养成功率的因素。方法 收集天津市第五中心医院收治的 24 例结直肠癌患者组织样本,采用特定的培养基和 Matrigel 基质胶进行类器官培养。样本在离体后 30 min 内被采集,并在 4℃ 条件下保存,以减少污染和蛋白质降解。培养过程中,记录细菌或真菌污染以及类器官生长情况,并对其组织学结构和肿瘤标志物表达进行检测。通过分析样本来源患者临床信息,探讨影响结直肠癌类器官培养成功率的可能因素。结果 70.8% (17/24) 的样本成功培养出类器官,不同肿瘤分期之间类器官培养成功率差异有统计学意义(均 $P < 0.05$), II 期和 III 期肿瘤组织类器官培养成功率明显高于 I 期和 IV 期 [83.3% (5/6)、90.9% (10/11) 比 33.4% (1/3)、25.0% (1/4)]。Ki-67 阳性区域比例在 55%~70% 范围内的样本成功率最高,为 100%。类器官的表型实验结果表明,其病理组织学结构和肿瘤标志物的表达与原发组织一致,表明类器官保留了原发灶的组织学特性。结论 本研究成功建立了结直肠癌类器官模型,揭示了肿瘤分期和 Ki-67 阳性区域比例对培养成功率的影响。类器官模型有效保留了原发灶的组织学特性,为结直肠癌的研究和治疗提供了一个强有力的体外工具。

【关键词】 结直肠癌; 类器官; 肿瘤标志物

基金项目:天津市卫生健康科技项目(TJWJ2022QN102);天津市滨海新区卫生健康委科技项目(2022BWKQ002);北京大学滨海医院科研创新与转化基金(2024-ZD-01)

DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2024.05.010

Establishment of colorectal cancer organoid models and analysis of factors influencing their culture success rates

Xue Na^{1,2,3,4}, Han Bing⁵, Wu Wenhan⁵, Li Yanxia^{2,3,4}, Xing Guoqiang⁵, Zheng Jie⁶, Zhang Shupeng⁵, Feng Qingguo¹, Wang Qing¹, Guo Liyan¹

¹Department of Critical Medicine, ²Central Laboratory, ³Tianjin Key Laboratory of Epigenetic for Organ Development of Preterm Infants, Tianjin Fifth Central Hospital, Tianjin 300450, China; ⁴Tianjin Binhai Huangnan Plateau Medical Research Institute, Huangnan Tibetan Autonomous Prefecture People's Hospital, Huangnan Prefecture 811399, Qinghai, China; ⁵Department of General Surgery, ⁶Department of Pathology, Tianjin Fifth Central Hospital, Tianjin 300450, China
Corresponding author: Guo Liyan, Email: 1570714949@qq.com

【Abstract】 **Objective** To investigate the application of organoid technology in colorectal cancer research and analyze the factors influencing the success rate of organoid cultivation. **Methods** A total of 24 samples of colorectal cancer patients treated at Tianjin Fifth Central Hospital and cultured organoids using specific culture media and Matrigel. The samples were collected within 30 minutes post-excision and stored at 4℃ to minimize contamination and protein degradation. During the cultivation process, the authors recorded instances of bacterial or fungal contamination and the organoid growth, and test for their histological structure and expression of tumor markers. Additionally, by analyzing clinical information from the patients who provided the samples, explore potential factors that may affect the success rate of culturing colorectal cancer organoids. **Results** A success rate of 70.8% (17/24) was achieved in the cultivation of organoid. The success rate of organoid culture was significantly different from that of tumor stage (all $P < 0.05$), with significantly higher successful organoid cultivation rate for stage II and stage III tumor tissues than those for stage I and IV [83.3% (5/6), 90.9% (10/11) vs. 33.4% (1/3), 25.0% (1/4)]. Additionally, samples with a Ki-67 positive area proportion of 55%–70% exhibited the highest success rate (100%). Phenotypic experiments on the organoids indicated that their pathological histological structure and the expression of tumor markers were consistent with those of the primary tissues, suggesting that the organoids retained the histological characteristics of the primary lesions. **Conclusions** This study successfully established a colorectal cancer organoid model revealing the impact of tumor staging and the proportion of

Ki-67 positive areas on the success rate of culture. The organoid model effectively retains the histological characteristics of the primary lesion, providing a powerful *in vitro* tool for the research and treatment of colorectal cancer.

【Key words】 Colorectal cancer; Organoids; Tumor biomarker

Fund program: Tianjin Health Science and Technology Project (TJWJ2022QN102); Tianjin Binhai New Area Health Commission Science and Technology Project (2022BWKQ002); Beijing University Binhai Hospital Research Innovation and Translation Fund (2024-ZD-01)

DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2024.05.010

结直肠癌(colorectal cancer, CRC)作为全球癌症死亡的主要原因之一^[1],其诊断往往在疾病晚期才得以实现,这与多种遗传因素或体细胞变异有关,是一种有高度异质性表现的疾病^[2]。近年来,随着三维细胞培养技术的不断进步,类器官技术为开发精确和个性化的肿瘤模型提供了新的途径^[3-5]。这些类器官不仅继承了二维细胞培养的便利性,而且通常来源于患者新鲜的肿瘤样本,能最大程度地保持肿瘤的原始遗传和表型特征。利用类器官模型,可将基础科学研究与临床治疗紧密结合,对于指导肿瘤患者的治疗策略有重要价值,从而获得更接近真实情况的研究结果^[6-9]。本研究对 24 个结直肠癌样本进行了类器官培养分析,特别关注了 2 例肠癌类器官的生长过程,并通过苏木素-伊红(hematoxylin and eosin, HE)染色和免疫组化法对 1 例类器官及其亲本组织进行了详细表型分析,以推动类器官技术在结直肠癌研究和治疗中的应用。

1 资料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 试剂:Hank's 平衡盐溶液(Hank's balanced salt solution, HBSS)缓冲液(美国 Gibco 公司), Dulbecco 改良 Eagle 培养基[Dulbecco's modified Eagle medium (DMEM 培养基),美国 Gibco 公司],人结肠类器官培养试剂盒(美国 MedChemExpress 公司), Matrigel 基质胶(美国康宁公司), TrypLE Express (1X) 消化液[赛默飞世尔科技(中国)有限公司],尾型同源盒转录因子 2(caudal type homeobox transcription factor 2, CDX2)、细胞角蛋白 20(cytokeratin 20, CK20) 和标记细胞增殖活性的 Ki-67 抗体(英国 Abcam 公司), HE 染色液(上海阿拉丁生化科技股份有限公司)。

1.1.2 肿瘤组织的采集:通过外科手术切除在天津市第五中心医院接受手术的结直肠癌患者肿瘤组织样本,从切除的组织中选取 0.5 cm×0.5 cm 的新鲜肿瘤组织块。为了最大限度地减少污染和蛋白质降解,样本在离体后 30 min 内被迅速采集。随后,将组织样本置于含 5% 青链霉素的 RPMI 1 690 培养

基中, 4℃ 保存,并在 1~2 h 内送实验室进行后续处理。研究共收集了 24 个结直肠癌原发灶组织样本。所有样本的采集均获得了患者及家属的知情同意,并且研究方案已经通过了医院伦理委员会的审查(审批号:WZX-EC-KY2024035)。

1.1.3 临床资料收集:收集患者性别、年龄、体质量指数(body mass index, BMI)、吸烟史、血清白蛋白、癌胚抗原(carcinoembryonic antigen, CEA)、糖类抗原 199(carbohydrate antigen 199, CA199)、伴随疾病、原发肿瘤大小、病理类型、肿瘤分化程度、肿瘤分期及术前是否接受了辅助治疗等资料。

1.2 试验方法

1.2.1 肿瘤类器官的培养和传代:① 培养:首先,将保存在培养基中的肿瘤组织转移到 15 mL 的离心管中,并使用含有 1×HBSS 缓冲液和 5% 青链霉素的 HBSS 混合液进行多次冲洗。将清洗干净的肿瘤组织置于培养皿中,加入 0.5 mL 的 HBSS 混合液,并用无菌剪刀将其剪切成 1~5 mm³ 的小块。随后,将剪切好的组织转移到 1.5 mL 的离心管中,在室温下以 1 200 r/min(离心半径 6 cm)的速度离心 3 min。弃上清液后,加入消化液进行消化处理 20 min,消化完成后加入 5% 的血清终止消化过程,并再次在室温下以 1 200 r/min 的速度离心 3 min,弃上清液,使用 HBSS 混合液重悬组织,并用 100 μm 的滤网过滤得到组织悬浮液。将过滤后的组织悬浮液在室温下以 1 200 r/min 的速度离心 3 min,弃上清液,加入适量 HBSS 混合液重悬,并进行细胞计数,确保消化后得到的细胞数量不少于 10⁴ 个。接着,使用 Matrigel 基质胶重悬细胞,确保基质胶的浓度不低于 70%,并按每孔 2×10⁴ 个细胞的标准,将 30~40 μL 的细胞悬液滴加到 24 孔板中,然后将培养板放置在细胞培养箱中静置 30 min。最后,加入 0.5 mL 的完全类器官培养基,于 5% 二氧化碳、37℃ 无菌培养箱中培养,每 3 d 更换 1 次培养液,并每天观察类器官的生长情况。图 1 为肠癌类器官的培养过程示意图。

② 传代:吸去需要传代的类器官孔中培养基,每孔加入消化缓冲液,并使用润洗过的枪头吹散基质胶,

然后在冰上孵育 20 min。再加入 3 倍体积的 DMEM 培养液终止消化过程,将混合物转移到离心管中,以 1 200 r/min 的速度离心 5 min,吸去上清液,将细胞沉淀用 HBSS 重悬,并转移到新的离心管中,再次以 1 200 r/min 的速度离心 5 min,吸去上清液。按 1:3 的比例进行传代,加入相应的 Matrigel 基质胶后,上下吹打 10 次以重悬细胞沉淀,此过程尽量在冰上操作并避免产生气泡。然后用冷枪头吸取基质胶混合悬液,加入到预热的 24 孔板中,并在细胞培养箱中放置 30 min,待 Matrigel 基质胶完全凝固后沿孔侧壁向每个孔中加入 0.5 mL 的类器官培养基,再置于 5% 二氧化碳、37℃ 的培养箱中进行培养,每 3 d 更换 1 次培养液。③ 冻存与复苏:在冻存前,使用移液枪头吸去原有培养基,加入 HBSS 吹散基质胶,然后将混合物转移到离心管中,并以 1 200 r/min 的速度离心 5 min,吸去上清液。使用预冷的冻存液重悬细胞,并将细胞悬液加入到冻存管中,然后迅速置于 -80℃ 的冰箱中过夜,第 2 天转移到液氮中进行长期保存。在复苏时,将含有类器官的冻存管从液氮罐中取出,并迅速置于 37℃ 的水浴锅中复温。待冻存液融化后,将类器官转移至离心管中,离心 5 min,吸去上清液,加入 Matrigel 基质胶重悬细胞,并按照前述步骤将类器官悬液置于 24 孔培养板中。

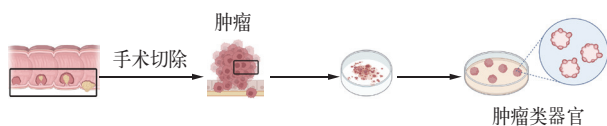


图 1 肠癌类器官的培养过程示意图

1.2.2 类器官石蜡切片的制备:类器官培养成功后,去除培养基并用 HBSS 混合液清洗 3 次,然后转移到离心管中,离心 3 min,弃上清液,加入 4% 甲醛水溶液室温下固定 30 min,再次离心 5 min 后弃上清液,再加入 2% 琼脂,混匀后凝固并取出琼脂块,放入包埋盒中。将包埋盒依次进行梯度乙醇脱水、透明、浸蜡,随后用石蜡包埋,再常规切片,切片厚度为 4~5 μm,并在 70℃ 下烤片 1 h。

1.2.3 HE 染色和免疫组化染色:① HE 染色:将切片脱蜡至水后,用苏木素染细胞核,伊红染细胞质,脱水透明后封片,干燥后在显微镜下观察。② 免疫组化染色:将烘烤过的切片进行脱蜡和复水处理,随后在柠檬酸钠修复液中修复。抗原修复后洗涤载玻片 2 次,用 5% 牛血清白蛋白(blood

serum albumin, BSA) 室温封闭 1 h。将抗体按比例稀释后,4℃ 孵育过夜。次日,用磷酸盐吐温缓冲液(phosphate buffered saline with Tween, PBST)冲洗 3 次,随后将切片置于过氧化氢酶阻断剂中孵育 15 min,滴加二抗后室温孵育 1 h,再用 PBST 清洗 3 次,显微镜观察下加入显色剂显色 1~2 min,用自来水冲洗 5 min,终止反应,用苏木素复染后在镜下观察。

1.3 统计学方法:使用 SPSS 25.0 统计软件分析数据,计数资料以例(%)表示,单因素分析采用 Fisher 确切概率法。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 结直肠癌类器官模型的建立与培养特征:本研究通过精细的操作成功建立了结直肠癌类器官模型。这些模型的培养代数为 1~4 代,平均 2 代,表明培养过程的可重复性和稳定性。中位培养时间为 20 d,这个时间段为类器官的生长和成熟提供了充足时间。在 24 例结直肠癌组织样本中,有 17 例(70.83%)培养成功,这一较高的成功率显示了本研究培养方法的有效性。但也有 5 例(20.83%)样本因细菌或真菌污染而未能成功培养,2 例(8.33%)样本因未观察到类器官生长而终止培养,这些失败案例提示人们在未来的工作中需要进一步优化培养条件和提高无菌操作的标准。

在培养过程中详细记录了肠癌类器官的形态学特征,从最初的 10~20 μm 囊性结构,类器官逐渐生长,最终直径可达 300 μm 以上。在显微镜下观察到肠癌类器官呈较大直径、边缘光滑、中空的空泡状球体形态,这种形态在传代至第 4 代时仍能保持稳定,显示了类器官良好的生物学特性和稳定性。图 2 为 1 例直肠癌类器官的生长过程,该类器官生长迅速,7 d 内直径增长至 100 μm。本例类器官形态呈空泡状,质地较轻,传代时损失较大,不建议使用胶回收液处理过久。样本来源于 1 例 81 岁女性原发直肠癌,肿瘤分期为 T4N0M0 [肿瘤(tumor, T) 4 期,淋巴结(node, N) 0 期,转移(metastasis, M) 0 期],溃疡型中分化腺癌;免疫组化结果显示 Ki-67 阳性率为 45%,Braf 阴性。

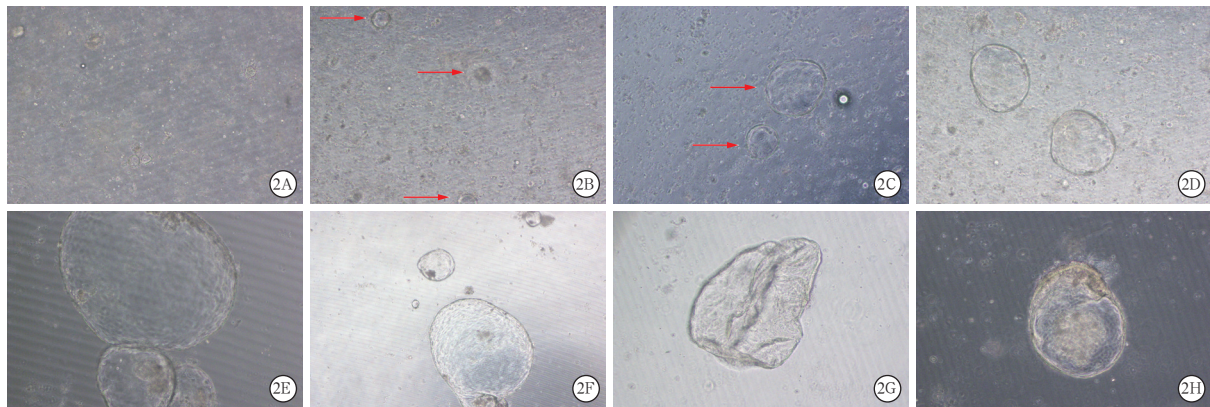
图 3 为另 1 例乙状结肠癌患者样本培养的类器官。该样本初期生长速度和形态与前述样本相似,第 9 天达到直径 100 μm,呈空泡状球体,但凋亡情况较为严重,可能与初期种植密度较大和消化处理后细胞丢失有关。样本来源于 1 例 70 岁女性原发

乙状结肠癌组织,肿瘤分期为 T4N0M0,乙状结肠溃疡型中-低分化腺癌;免疫组化结果显示 Ki-67 阳性率 >65%, Braf 阴性。

2.2 影响结直肠癌类器官培养成功率的因素分析(表 1):在对 24 例结直肠癌组织样本进行 3D 类器官培养技术的应用中,发现总的肠癌类器官培养成功率为 70.8%。多个临床特征类器官培养成功率分析显示,不同性别、年龄、BMI、白蛋白、原发肿瘤大小、肿瘤的病理类型、肿瘤分化程度、Ki-67 阳性区域和是否抽烟、CEA 是否正常、CA199 是否正常、是否有淋巴结转移、是否有并发症、术前是否辅助治疗之间类器官培养成功率比较差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$),分析可能与样本较少有关。而不同肿瘤的病理类型之间类器官培养成功率比较差异有统计学意义($P < 0.05$),II 期和 III 期肿瘤组织的类器官培养成功率高于 I 期和 IV 期。提示肿瘤的分期可能是影响类器官培养成功率的一个重要因素。此外,尽管不同 Ki-67 阳性区域比例间类器官的培养成功

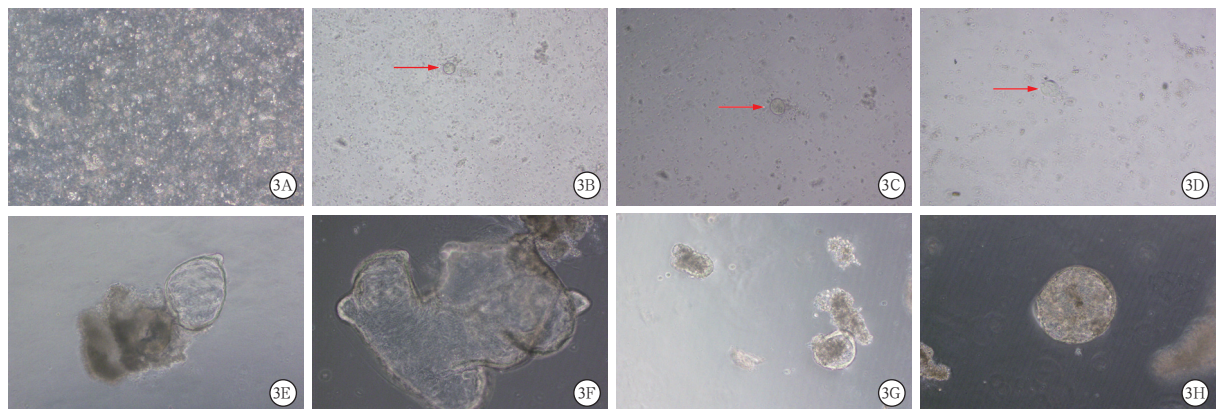
率差异无统计学意义,但在 55% ~ 70% 范围内的样本显示出最高的培养成功率。

2.3 结直肠癌类器官的组织学鉴定:为了确保培养成功的肠癌类器官能准确反映患者原发肿瘤的组织学特征,本研究对配对的类器官和组织进行了详细比较和分析,选取了 1 例 56 岁男性乙状结肠癌患者样本培养的类器官进行 HE 和免疫组化染色,并与其亲本组织比较,结果显示,本例患者类器官样本体外培养 3 d 镜下可观察到大量空泡状结构,并可稳定传代(图 4)。亲本组织 HE 染色可见明显筛状结构,几乎找不到正常组织;由此样本衍生的类器官的 HE 染色结果可见紧凑致密的形态(图 5),表明与原始肿瘤具有相似的病理特征。同时,本例患者乙状结肠癌类器官的免疫组化结果显示,CK20、CDX2、Ki-67 阳性表达(图 6),这与亲本肿瘤组织一致(图 7),表明其在组织学上保留了癌变组织的特征。这一发现验证了类器官模型在模拟肿瘤生物学行为和响应治疗方面的潜力。



注:A~D为培养1、4、7、9 d,E和F为类器官传第1代13 d和16 d,G和H为类器官传第2代20 d和27 d;箭头为类器官

图 2 各时间点直肠癌类器官体外连续培养的形态变化



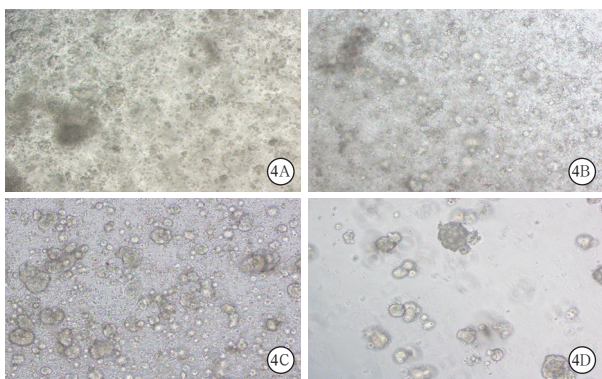
注:A~D为培养1、4、9、21 d,E为类器官传第1代9 d,F为类器官传第2代33 d,G和H为类器官传第3代36 d、42 d;箭头为类器官

图 3 各时间点乙状结肠癌类器官体外连续培养的形态变化

表 1 影响结直肠癌类器官培养成功率的因素分析

项目	例数 (例)	类器官培养成功率 [% (例)]	P 值	项目	例数 (例)	类器官培养成功率 [% (例)]	P 值	项目	例数 (例)	类器官培养成功率 [% (例)]	P 值
性别 [% (例)]			0.065	CA199 [% (例)]			0.507	肿瘤分化程度 [% (例)]			0.669
男性	17	58.8 (10)		正常	22	72.7 (16)		中 - 高	15	66.7 (10)	
女性	7	100.0 (7)		升高	2	50.0 (1)		低	9	77.8 (7)	
年龄 [% (例)]			1.000	淋巴结转移 [% (例)]			0.552	肿瘤分期 [% (例)]			0.025
≤60 岁	8	75.0 (6)		是	4	50.0 (2)		I 期	3	33.4 (1)	
>60 岁	16	68.8 (11)		否	20	75.0 (15)		II 期	6	83.3 (5)	
BMI [% (例)]			0.065	并发症 [% (例)]			0.552	III 期	11	90.9 (10)	
≤25.0 kg/m ²	17	58.8 (10)		无	20	75.0 (15)		IV 期	4	25.0 (1)	
>25.0 kg/m ²	7	100.0 (7)		肠梗阻	4	50.0 (2)		Ki-67 阳性区域 [% (例)]			0.486
吸烟史 [% (例)]			0.530	原发肿瘤大小 [% (例)]			1.000	Ki-67 ≥85%	7	57.1 (4)	
是	3	100.0 (3)		≤5 cm	17	70.1 (12)		70% ≤ Ki-67 < 85%	9	66.7 (6)	
否	21	66.7 (14)		>5 cm	7	71.4 (5)		55% ≤ Ki-67 < 70%	5	100.0 (5)	
白蛋白 [% (例)]			0.283	肿瘤病理类型 [% (例)]			0.664	Ki-67 < 55%	3	66.7 (2)	
≤40 g/L	20	65.0 (13)		腺癌	20	65.0 (13)		术前辅助治疗 [% (例)]			1.000
>40 g/L	4	100.0 (4)		部分黏液腺癌	3	100.0 (3)		无	22	68.2 (15)	
CEA [% (例)]			1.000	黏液腺癌	1	100.0 (1)		化疗	2	100.0 (2)	
正常	13	69.2 (9)									
升高	11	72.7 (8)									

注：表中检验方法均为 Fisher 确切概率法



注：A~C 为培养 1、2、3 d, D 为类器官第 1 代 7 d

图 4 1 例 56 岁男性乙状结肠癌患者乙状结肠类器官生长情况 免疫组化染色 低倍放大

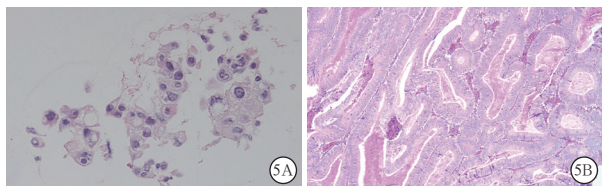


图 5 1 例 56 岁男性乙状结肠癌患者乙状结肠类器官 (A) 和其亲本组织 (B) 的 HE 染色结果 低倍放大

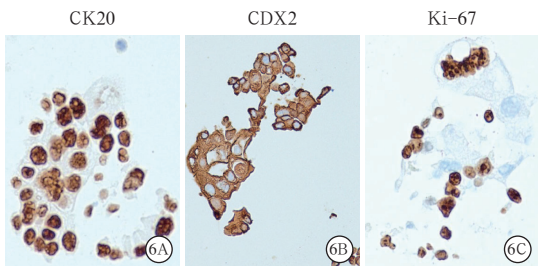


图 6 1 例 56 岁男性乙状结肠癌患者乙状结肠类器官免疫组化染色结果 低倍放大

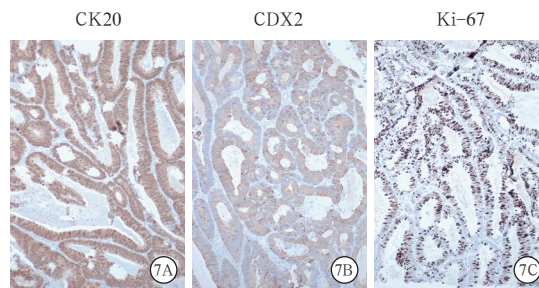


图 7 1 例 56 岁男性乙状结肠癌患者乙状结肠亲本组织免疫组化染色结果 低倍放大

3 讨论

类器官技术是一种创新的体外三维细胞培养方法,通过利用成体干细胞在体外构建出与人体器官高度相似的 3D 细胞结构,不仅在组织和分子水平上模拟了相应器官的生理和病理学功能,而且在肿瘤研究领域展现出巨大潜力。相较于传统的 2D 细胞培养和器官移植模型^[10],类器官培养技术更有效地保留了肿瘤的异质性和组织特性,更贴近临床患者的肿瘤状态。此外,类器官培养技术还模拟了肿瘤微环境的交互作用,为肿瘤药物研发提供了一个更接近真实临床情况的平台。这一技术已被证实 在高通量药物筛选和个体化治疗的临床试验中有广泛的应用价值,尤其在少见癌症或缺乏共识的治疗策略中显示出其独特优势。

本研究对 24 例结直肠癌组织样本进行了类器官培养,其中 70.8% (17 例) 成功培养出类器官。与文献报告的数据基本一致,如 Yao 等^[7] 报告的结直

肠癌类器官培养成功率为 85.7%，van de Wetering 等^[11]从 27 个结直肠癌样本中成功培养出 22 个肿瘤类器官，成功率 81.5%，Weeber 等^[12]从 14 例转移性结直肠癌患者的肿瘤活检样本中培养类器官，成功率 71%；Wang 等^[13]从 136 个手术样本中成功培养了 108 个患者源肿瘤类器官 (patient-derived tumor organoid, PDTO)，总体成功率 79.41%；曾云丽等^[14]报告的肠癌类器官培养成功率为 76.3%，Herpers 等^[15]从 68 例患者中收集了 99 个肿瘤样本，成功建立了 61 个原发性结直肠癌和 11 个结直肠癌肝转移的类器官模型，培养成功率为 72.7%。本研究 20.8% (5 例) 的样本因细菌或真菌污染而失败，8.3% (2 例) 的样本因未观察到类器官生长而终止培养。这些失败可能与样本的病理特点、肿瘤微环境的复杂性或技术操作的局限性有关。

肠癌类器官在光学显微镜下呈球形，能快速生长，通常在 7 d 左右达到直径 100 μm ，并且在多次传代后仍能保持原有形态。本研究 5 例样本的 Braf 表达均为阴性，且这些样本均较易培育出肠癌类器官，与已知研究的结果一致^[16]。此外，本研究不同肿瘤分期之间类器官培养成功率比较差异有统计学意义，II 期和 III 期肿瘤组织类器官培养成功率高于 I 期和 IV 期。Ki-67 阳性区域在 $55\% \leq \text{Ki-67} < 70\%$ 的样本类器官培养成功率也较高，这可能表明肿瘤细胞的增殖活性对类器官的形成和维持有一定影响。其他因素，如 CEA 和 CA199，尽管已有研究表明二者联合使用能明显提高直肠癌的检出率^[17]，但本研究中二者正常和升高之间类器官培养成功率比较差异无统计学意义。有研究显示，并发肠梗阻会影响患者预后^[18-19]。本研究中是否并发肠梗阻患者样本的肠癌类器官培养成功率比较差异无统计学意义。未来的研究将培养更多的肠癌类器官样本，以进一步验证癌症特征与培养成功率的相关性。

本研究肠癌类器官的表型实验结果表明，其病理组织学结构和相关肿瘤标志物的表达与配对的原发组织一致。这些类器官保留了原发灶的组织学特性，可以作为体外药物筛选模型，也符合类器官生物样本库构建的标准。这些发现为结直肠癌的精准治疗和个体化医疗提供了新的视角和工具。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

[1] Wong MCS, Huang J, Lok V, et al. Differences in incidence and mortality trends of colorectal cancer worldwide based on sex, age, and anatomic location [J]. Clin Gastroenterol Hepatol, 2021, 19 (5):

- 955-966. e61. DOI: 10.1016/j.cgh.2020.02.026.
- [2] Favoriti P, Carbone G, Greco M, et al. Worldwide burden of colorectal cancer: a review [J]. Updates Surg, 2016, 68 (1): 7-11. DOI: 10.1007/s13304-016-0359-y.
- [3] Barbáchano A, Fernández-Barral A, Bustamante-Madrid P, et al. Organoids and colorectal cancer [J]. Cancers (Basel), 2021, 13 (11): 2657. DOI: 10.3390/cancers13112657.
- [4] Jensen LH, Rogatto SR, 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]. J Exp Clin Cancer Res, 2023, 42 (1): 115. DOI: 10.1186/s13046-023-02683-4.
- [5] Xu HX, Jiao DC, Liu AG, 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] Pasch CA, Favreau PF, Yueh AE, et al. Patient-derived cancer organoid cultures to predict sensitivity to chemotherapy and radiation [J]. Clin Cancer Res, 2019, 25 (17): 5376-5387. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-18-3590.
- [7] Yao Y, Xu XY, Yang LF, et al. Patient-derived organoids predict chemoradiation responses of locally advanced rectal cancer [J]. Cell Stem Cell, 2020, 26 (1): 17-26. e6. DOI: 10.1016/j.stem.2019.10.010.
- [8] Ramzy GM, Norkin M, Koessler T, et al. Platform combining statistical modeling and patient-derived organoids to facilitate personalized treatment of colorectal carcinoma [J]. J Exp Clin Cancer Res, 2023, 42 (1): 79. DOI: 10.1186/s13046-023-02650-z.
- [9] Mao YN, Wang W, Yang JW, et al. Drug repurposing screening and mechanism analysis based on human colorectal cancer organoids [J]. Protein Cell, 2024, 15 (4): 285-304. DOI: 10.1093/procel/pwad038.
- [10] 王洪海, 郑虹.《肝移植治疗不可切除结直肠癌肝转移: 国际肝胆胰协会共识指南》解读 [J/CD]. 实用器官移植电子杂志, 2022, 10 (6): 490-494. DOI: 10.3969/j.issn.2095-5332.2022.06.002.
- [11] 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. DOI: 10.1016/j.cell.2015.03.053.
- [12] Weeber F, van de Wetering M, Hoogstraat M, et al. Preserved genetic diversity in organoids cultured from biopsies of human colorectal cancer metastases [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2015, 112 (43): 13308-13311. DOI: 10.1073/pnas.1516689112.
- [13] Wang T, Tang YT, Pan WJ, et al. Patient-derived tumor organoids can predict the progression-free survival of patients with stage IV colorectal cancer after surgery [J]. Dis Colon Rectum, 2023, 66 (5): 733-743. DOI: 10.1097/DCR.0000000000002511.
- [14] 曾云丽, 王穗东, 李怡然, 等. 1231 例结直肠癌类器官培养成功率的影响因素分析 [J]. 中华胃肠外科杂志, 2023, 26 (8): 780-786. DOI: 10.3760/cma.j.cn441530-20221128-00499.
- [15] Herpers B, Eppink B, James MI, et al. Functional patient-derived organoid screenings identify MCLA-158 as a therapeutic EGFR \times LGR5 bispecific antibody with efficacy in epithelial tumors [J]. Nat Cancer, 2022, 3 (4): 418-436. DOI: 10.1038/s43018-022-00359-0.
- [16] Li XR, Larsson P, Ljuslinder I, et al. *Ex vivo* organoid cultures reveal the importance of the tumor microenvironment for maintenance of colorectal cancer stem cells [J]. Cancers (Basel), 2020, 12 (4): 923. DOI: 10.3390/cancers12040923.
- [17] 张静. CEA 和 CA19-9 联合检测在直肠癌诊断及疗效评估中的应用价值 [J]. 实用检验医师杂志, 2016, 8 (2): 91-93. DOI: 10.3969/j.issn.1674-7151.2016.02.008.
- [18] 刘雅刚, 胡亚民, 胡亚力. 急性肠梗阻 98 例治疗体会 [J]. 中国危重病急救医学, 2008, 20 (7): 445. DOI: 10.3321/j.issn:1003-0603.2008.07.021.
- [19] 鲁葆春, 任培土. 大网膜结合生物胶粘合法在结肠癌急诊手术中的应用 [J]. 中国中西医结合急救杂志, 2009, 16 (2): 91. DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2009.02.010.

(收稿日期: 2024-06-17)

(责任编辑: 邸美仙)