

“微肠”类器官的构建与新视角下的肠道疾病研究

徐子岩 刘野 蒋运罡 黄金健 吴秀文 任建安

南京大学医学院附属金陵医院(东部战区总医院)全军普通外科研究所 210002

通信作者:任建安,Email:jiananr@nju.edu.cn

【摘要】 肠道类器官是指利用隐窝干细胞的增殖和自组装的特性,在体外重建出的多种小肠上皮细胞类型和类似生理结构,也被称为“微肠”。类器官研究起始于不同肠段中 Lgr5 阳性隐窝干细胞的发现,而小肠/结肠干细胞微环境中 EGF、Wnt、BMP/TGF- β 、Notch 等信号通路对干细胞特性的体外维持同样起关键作用。“微肠”类器官不仅可以实现隐窝-绒毛极性结构的重建,也可以重现分化型细胞组分和上皮功能。自 2009 年 Sato 等构建起小肠类器官培养体系以来,相较于主要由遗传变异细胞所构成的常规细胞培养体系,肠道类器官展现出诸多优点,并成为胃肠道疾病研究领域的热点。此外,类器官研究通过与基因组学、材料学、工程学相结合,在各医学研究领域大放异彩。“微肠”类器官作为临床前模型已广泛应用于肠道发生、肠道转运生理、肠屏障、病原体-宿主相互作用等基础研究领域,以及囊性纤维化、感染性腹泻、溃疡性结肠炎、克罗恩病和肠道肿瘤等疾病的临床研究中。本综述主要讨论肠道类器官的构建方法及其在肠道疾病中的研究及应用进展。

【关键词】 类器官; 肠道干细胞; 肠道疾病; 构建; 病原体-宿主相互作用

基金项目: 国家科技重大专项(2018ZX09J18111004);江苏省“333 高层次人才培养工程”(BRA2019011);江苏省医学杰出人才(JCRCB2016006)

Establishment of mini-guts organoid and research on intestinal disease from the new perspective

Xu Ziyang, Liu Ye, Jiang Yungang, Huang Jinjian, Wu Xiuwen, Ren Jian'an

Research Institute of General Surgery, Jinling Hospital, Nanjing University School of Medicine, Nanjing 210002, China

Corresponding author: Ren Jian'an, Email:jiananr@nju.edu.cn

【Abstract】 Intestinal organoids, also named "mini-guts", reconstitute sophisticated three-dimensional architecture recapitulating diversified intestinal epithelial cell types and physiology, which is driven by the proliferative and self-assembling characteristics of crypt stem cells. The initiation of organoids study relies on the identification of Lgr5+ crypt stem cells from different intestinal segments and the key role of EGF, Wnt, BMP/TGF- β , Notch signal pathways within the microenvironment during the cultivation process. Besides constituting polarized crypt-villus structures, these "mini-guts" exhibit various effective functions of intestinal epithelium. Since 2009 when the culture system of small intestinal organoids was established by Sato et al, intestinal organoids excel conventional intestinal models depending on genetical mutation in multiple aspects and thus have become the hotspot among the research on intestinal diseases. Combined with genomics, material science and engineering, "mini-guts" have been widely applied to the research on intestinal development, intestinal transport physiology, epithelial barrier, pathogen-host interaction and the study on cystic fibrosis, infectious diarrhea, ulcerative colitis, Crohn's disease, intestinal cancer, etc. In this review, we summarize the new insights introduced by organoid into the research on intestinal diseases, and related research advances and applications.

DOI: 10.3760/cma.j.cn.441530-20200422-00236

收稿日期 2020-04-22 本文编辑 万晓梅

引用本文:徐子岩,刘野,蒋运罡,等.“微肠”类器官的构建与新视角下的肠道疾病研究[J].中华胃肠外科杂志,2021,24(7):638-643. DOI:10.3760/cma.j.cn.441530-20200422-00236.



【Key words】 Organoids; Intestinal stem cell; Intestinal disease; Reconstitution; Pathogen-host interaction

Fund program: National Major Scientific and Technological Special Project (2018ZX09J18111004); 333 High Level Talents Training Project of Jiangsu Province (BRA2019011); Distinguished Scholars Foundation of Jiangsu Province (JCRCB2016006)

在体外模拟的组织微环境中,通过添加特异性生长因子培养干细胞或前体细胞,从而进行具有器官特异性的多分化类型细胞培养,称为类器官培养。其中,肠道类器官由肠道隐窝中的干细胞经体外培养后得到,也被称为“微肠”类器官^[1]。2007年,Clever团队通过谱系示踪技术发现了肠道干细胞(intestinal stem cell, ISC)表面的标志性分子,即富含亮氨酸重复序列G蛋白偶联受体(leucine-rich repeat-containing G-protein coupled receptor 5, Lgr5), Lgr5作为Wnt信号通路的受体起到维持ISC增殖和未分化状态的作用^[2]。随后,Sato等^[1]将ISC分离培养技术与基质胶相结合,培养出具有封闭内腔和出芽隐窝的立体多细胞极性结构,可维持干细胞表型和稳定传达达1年以上。ISC在基质胶中分化出完整的黏膜上皮层,被胶体包裹而形成囊球状结构与封闭内腔,其上皮绒毛侧朝向腔内,而上皮的基底侧接触富含生长因子的基质胶;基质胶取自小鼠肉瘤,主要包含层粘连蛋白、IV型胶原、巢蛋白、硫酸肝素蛋白多糖等细胞外基质和转化生长因子(transforming growth factor- β , TGF- β)、成纤维细胞生长因子4(fibroblast growth factor 4, FGF4)等生长因子,与天然组织基底膜有极大的相似性。基质胶既可以通过结合细胞上的整联蛋白抑制细胞凋亡,也可以减少Rho-ROCK通路激活诱导的失巢凋亡,是目前肠道类器官培养的首选基质。基于肠道类器官与基质胶的培养模式,来源于胃、肝脏、胰腺、脑皮质、前列腺、肺泡的类器官也被相继建立。

相比于二维环境中单一克隆类群细胞的常规培养,三维培养模式下的类器官可以达到微器官水平,与单细胞测序、活细胞成像、水凝胶、微工程技术、基因编辑、微流控器官芯片等前沿领域有极高的结合潜力。衍生于ISC的“微肠”类器官,为肠道相关疾病的基础和临床科研都提供了新的思路。本文综合近年来肠道类器官领域的最新进展,就肠道类器官模型构建以及与肠道疾病相关的重大研究发现作一综述。

一、肠道类器官的建立

识别人体器官组织中的干细胞一直是医学研究中的热点和难点,长期稳定的体外扩增与培养更是仅在极少数细胞系中得以实现^[3]。2009年的一项研究显示,小鼠肠道来源的单个Lgr5+干细胞在体外基质胶环境中形成具有3D隐窝-绒毛样结构和自更新能力的“微肠”,这一重大研究突破标志着类器官领域的开启^[1]。

“微肠”类器官培养体系的建立还取决于培养基中添加的表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)、Wnt、R-spondin、Noggin、TGF- β 等关键性生长因子。其中,Wnt信号通路的维持对ISC的体外存活至关重要。Wnt配体主要由隐

窝中围绕在ISC周围的潘氏细胞和黏膜下层的成纤维细胞分泌,负责刺激膜蛋白卷曲受体使ISC维持增殖并向潘氏细胞分化^[4]。但Wnt通路的持续激活会阻碍其他分化型细胞的产生^[5]。上述生长因子的特定组合构建起小肠、结肠、肝脏、胃腺、胰腺等一系列消化道上皮类器官的培养体系,在培养过程中序贯调控指定生长因子还可以实现对类器官的分化状态和分化方向的干预,极大地拓展了消化道疾病研究的思路^[1-5]。

肠道类器官的培养体系和实验方法也在不断优化^[6]。早期在立体显微镜辅助下的类器官腔内注射方法,操作流程复杂且耗时,易破坏类器官结构的完整性。而基于Transwell小室中聚碳酸酯半透膜和基质胶涂层的二维单层类器官培养体系,既保留了干细胞更新生长效率和类器官结构极性,也使得调控培养基中的生长因子和测定上皮功能更加容易,减少了类器官封闭内腔为实验操作带来的限制^[7-8]。2019年,斯坦福大学团队通过改变基质胶类似物的浓度和添加 β 1整合素拮抗剂,实现成熟肠道类器官的极性翻转,为绒毛侧离子转运、物质吸收等功能测定和病原体感染研究提供便利^[8]。

1. 基于ISC的肠道类器官培养: 人源小肠类器官和结肠类器官一般指来源于小儿或成人肠道特定肠段隐窝处的上皮干细胞经体外原代培养后形成的,具有内腔和出芽隐窝的多细胞叶状结构^[9]。相较于人诱导多能干细胞(induced pluripotent stem cell, iPSC), ISC的获取较为容易。目前,肠道类器官可从所有特定小肠段、结肠段和直肠经过干细胞分离培养得到,并且可根据实验需要进行隐窝培养或Lgr5+单细胞培养。以单个干细胞来源的小肠类器官为例,在培养初期,小肠干细胞经有丝分裂在第3天形成囊状球型结构。在4细胞至16细胞阶段之间,机械应力感受器YAP1(yes-associated protein 1)被差异性激活,引起Dl1阳性(delta-like ligand 1)的原始潘氏细胞形成^[10]。最终促使增殖性隐窝和异质性分化谱系的出现。在干细胞增殖末期,通过引入Wnt通路抑制剂IWP-2或者Notch通路抑制剂DAPT等具有促分化作用的细胞因子,ISC向隐窝顶部迁移并特化为过渡增殖细胞,并向各类型成熟细胞分化。基于ISC的迁移特性,通过构建具有三维隐窝-毛样结构的高分子聚合物或胶原蛋白支架以搭载基质胶,可以使肠道类器官具有类似生理状态的空间绒毛结构^[11-13]。

2. 基于人iPSC的肠道类器官培养: 在结肠类器官培养成功的同时,Spence和Well的团队成功实现iPSC向小肠的定向分化^[14]。由iPSC或胚胎干细胞(human embryonic stem cell, hESC)来源的肠道类器官被称为人诱导肠道类器

官(induced human intestinal organoid, iHIO)。从定形内胚层特化为后肠的过程中,小肠隐窝中信号通路的相继调控再次发挥重要作用。前期,iPSC在激活素A(activin A)的作用下分化为定形内胚层和极少部分中胚层。此时的内胚层细胞包括Albumin+、PDX+的前肠细胞和CDX2+的后肠细胞。随后,在Wnt3a和FGF4的协同作用下,后肠细胞的生长得到促进并且向肠道形态发生。原本排列为单层的内胚层细胞出芽,并转化为囊球状。在转入基质胶后,后肠球体持续扩增并分化为iHIO,其在形态发生、上皮结构、基因转录等层面与胎儿肠道类似。尽管iHIO缺乏肠段特异性,混杂着表达GATA-4和GATA-6的近端肠段细胞和仅表达GATA-6的远端肠段细胞,但成熟的iHIO仍具有完整的上皮谱系分化,同样具有极性结构和完备的上皮功能。iHIO区别于ISC来源肠道类器官的主要特征是具有围绕上皮层的间质。为进一步丰富iHIO培养体系,Workman等^[15]通过组织工程技术在iHIO中培育出肠神经系统,并能够持续产生收缩。

二、疾病研究

1. 遗传缺陷疾病与再生医学:早在2006年,Avansino等^[16]就将新生大鼠和小鼠的回肠干细胞分离后移植到同源异体实验动物的空肠段,并在移植鼠中观察到超过6周的回肠特异性功能蛋白回肠胆汁酸转运体(ileal bile acid transporter, IBAT)的转录和表达。随后,“肠黏膜基因治疗”理念应运而生,即通过生物学、微工程学等方法实施肠道组织或黏膜上皮的体外培养,对干细胞进行缺陷基因校正,再通过自体移植或人类白细胞抗原(human leukocyte antigen, HLA)匹配的异体移植等方法植入患者肠道,以帮助患者恢复黏膜功能或肠道生理状态,可能对先天性基因遗传病中存在的特定功能蛋白的失调实现基因校正治疗,如葡萄糖半乳糖吸收不良症、微绒毛包涵体病等,并为临床常见的胆汁酸吸收障碍提供新的治疗策略。

囊性纤维化(cystic fibrosis, CF)作为白种人最常见的致死性常染色体隐性遗传病,其致病基因CF跨膜传导调节因子(cystic fibrosis transmembrane conductance regulator, CFTR)具有近2000种突变可能,为靶向药物的筛选带来了极大的困难。Dekkers等^[17]在2013年首次发现正常人体上皮来源的,以及其他CFTR非突变型的小肠类器官,都可在毛喉素的诱导下发生膨胀,而CF患者来源的具有CFTR基因突变的小肠类器官则不发生膨胀。通过CRISPR-Cas9基因编辑技术对患者小肠干细胞进行同源重组修复CFTRF508缺陷位点后,可完全恢复CFTR的正常功能,为针对CF的DNA修复治疗奠定了基础^[18]。同时,根据不同的膨胀比率建立CF患者来源的结肠类器官库,既可作为CF新药研发试验的临床前模型,也可帮助患者实现个性化治疗^[19]。

对葡聚糖硫酸钠(dextran sulfate sodium salt, DSS)诱导肠炎的小鼠肠道进行结肠类器官的移植,以及对免疫缺陷伴黏膜损伤的小鼠肠道进行人源肠道类器官的移植,均观察到完整的上皮功能和来源标记,证实结肠上皮具有良好的移植性和高度可塑性^[20-23]。这表明基于类器官的干细胞治疗,可

用于临床常见的放疗、化疗等因素所致的严重消化道上皮损伤,以实现“黏膜治疗”^[21-22]。将结肠类器官培养在具有隐窝绒毛样结构且生物相容性良好的聚乳酸-羟基乙酸支架上,可制备成2.25 mm²的二维“肠黏膜单元”,在移植后被证实可促进结肠黏膜剥除术后的上皮修复^[24]。

动物来源的脱细胞基质,是一种更适于搭载类器官和体内移植的培养基质,经过改性后,其类器官培养效率可接近基质胶^[25]。同时,类器官相关脉管结构的生物医学研究也使得大块组织的移植变为可能^[26]。构建在可降解高分子聚合物支架上的二维和三维肠道类器官培养相互补充,可个性化地满足不同的临床治疗需求^[6]。逐步搭建起从体外小细胞培养到组织器官移植之间的桥梁。

2. 肠道感染性疾病:随着口服补液盐溶液的推广和卫生条件的改善,消化道传染性疾病的爆发大幅度减少,感染性腹泻的死亡率明显下降。但目前对肠道病原体的定植、移位和损伤机制的认识薄弱,迫切需要针对特异性肠道病原体的实验平台 and 治疗方法。肠道类器官培养体系使我们能进一步探究各类型上皮细胞、致病病原体乃至肠道菌群所构成的复杂微生态系统,以阐述致病病原体的感染机制或肠道菌群的生理作用。

类器官模型揭示了肠道病原体的感染机制。例如,人轮状病毒RV1疫苗株可通过肠毒素NSP4片段导致小肠类器官的膨胀,引起类似生理状况下的腹泻反应^[27]。轮状病毒通过其非结构蛋白NSP1和NSP3干扰上皮细胞中的NF- κ B通路抑制III型干扰素的分泌,从而逃脱病原体相关模式分子(pathogen-associated molecular pattern, PAMP)激活后产生的宿主固有免疫反应^[28]。同时,相较于传统变异细胞系,轮状病毒在小肠类器官中具有更高的复制能力。通过添加外源性胆汁,研究人员在类器官中证实诺如病毒可通过消化道中类组织血型抗原(histo-blood group antigen, HBGA)受体实现侵入^[29]。而在肠道病毒属中,研究人员观察到埃可病毒11型的特异性细胞毒性作用可破坏隐窝结构并且使紧密连接蛋白表达错位,并诱导炎性介质释放,而同属的柯萨奇病毒B和肠道病毒71感染的肠道类器官却无法检测出抗病毒应答^[30]。

肠道类器官还揭示了病原体感染的肠段特异性和细胞特异性。如导致儿童腹泻的常见病原体凝聚性大肠杆菌对十二指肠、回肠和结肠类器官有更强的亲和力,且对不同肠段有5种菌毛粘附模式^[31]。同时,各种上皮细胞类型在病原入侵过程中也扮演着不同的角色,如轮状病毒主要结合上皮吸收细胞和肠内分泌细胞^[27];埃可病毒11型无法在杯状细胞中复制;而肠道腺病毒5p型则优先感染杯状细胞^[32]。凭借3D共聚焦重建技术,研究人员可以清晰地观察到鼠伤寒沙门氏菌引起上皮绒毛褶皱^[33]、胞内细菌复制、坏死细胞受挤压脱落的全过程,以及产单核细胞性李斯特菌如何通过募集肌动蛋白进行细胞间移动^[8]。

3. 炎性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)的发病机制研究与治疗进展:肠道类器官具有的多样化性、基因特异

性和结构极性,逐渐成为 IBD 研究中的细胞实验平台。在肠道类器官中筛选出驱动 IBD 患者上皮功能失调和 DNA 甲基化特征改变的关键通路和转录机制,是下一阶段 IBD 发病机制研究的关键^[13,34]。

研究证实,来源于溃疡性结肠炎 (ulcerative colitis, UC) 患者病变黏膜的类器官中的隐窝干细胞存在长期的差异性转录特征。抗菌蛋白溶菌素 C (lysozyme, LYZ)、紧密连接蛋白 18 (claudin 18)、膜联蛋白 A10 (annexin A10) 等转录子的上调,以及水孔蛋白 8 (aquaporin 8)、跨膜黏蛋白 12 (mucin 12) 等 mRNA 的下调所导致的结肠黏膜上皮细胞功能缺陷,可能是导致 UC 迁延的原因^[35]。而对克罗恩病 (Crohn disease, CD) 来源的小肠类器官进行的单细胞测序结果中,检测到 LYZ 的 mRNA 显著失调、以及多种干细胞标记物的差异性表达^[36]。Rees 等^[37]最新研究发现,UC 和 CD 来源的结肠类器官中都存在内质网应激途径的失调,可能导致 Toll 样受体 5 功能增强,继而引起高水平 IL-8 分泌和周围树突状细胞的持续激活,最终造成黏膜自体炎性反应。而在小肠的分段研究中发现,NF- κ B2 旁路途径不同程度地参与近端和远端小肠的凋亡和炎性反应。

除 NF- κ B2 旁路途径和内质网应激反应可能成为 IBD 新的治疗靶点外,根据患者存在的多种上皮功能缺陷,对 IBD 患者的难治性溃疡等疾病活动部位,实施自体肠道类器官体外扩增后的内镜下移植,已有多项临床试验在全球范围内开展。与肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor alpha, TNF- α) 单抗生物制剂不同,类器官黏膜治疗可能有助于调整病变部位的干细胞微环境并促进溃疡愈合^[34,38]。

4. 肠道肿瘤基因库与个性化药物筛选:癌症的个性化治疗受限于靶向药物的筛选和研发,传统的基于细胞系培养和人源肿瘤异种移植物的药物临床前试验,不具有异质性遗传学和生物学特征,均不能准确地反映癌细胞对药物的敏感性。癌组织来源的类器官模型保留了恶性组织的分子和生物学特征,作为临床前模型,为肿瘤的发生机制研究、药物敏感性筛选和基于突变基因的个性化肿瘤治疗提供了独特的平台^[38-39]。Li 等^[40]通过引入短发夹 RNA (short hairpin RNA, shRNA) 在野生型小鼠结肠类器官中成功诱导 *Apc*、*p53*、*KRAS*、*Smad4* 基因突变,并观察到类器官向侵袭性腺癌的生物转变。Roper 等^[41]结合 CRISPR-Cas9 基因编辑技术可实现特定突变基因在正常结肠类器官中的引入,揭示了 EGF、Wnt、TGF- β 信号通路在结肠上皮的恶性转变中发挥的作用。

基于类器官技术制造出的器官芯片,与高通量测序技术的完美结合,使得结肠癌基因库的建立和药物筛选更加快捷、高效。通过对 22 个结肠癌来源类器官和 19 个正常组织来源类器官建立生物基因库并进行外显子测序、RNA 表达分析和高通量药物筛选,证实西妥昔单抗对 *KRAS* 突变亚型结肠癌的疗效^[42]。成功填补患者肿瘤异质性基因型与基于类器官的药物研究之间的空白,对肿瘤患者实现个性化治疗具有重大意义^[43]。

5. 肠道屏障功能障碍:肠道表面黏膜是机体非特异性免

疫的第一道防线,与机体的免疫状态息息相关。肠屏障功能的失调作为一类独特的病理生理变化,在感染性腹泻、炎性肠病和脓毒症等疾病中起到关键作用。如何将肠道疾病特异性病理改变与肠上皮黏膜的具体组织成分相联系,一直是肠道疾病机制研究的难题。肠道类器官中的黏膜上皮细胞、细胞间的连接复合体、上皮外黏液、固有层基质和一系列抗菌肽,重现了肠道黏膜的部分机械、化学和免疫屏障。例如,在单层肠道类器官培养体系中,跨上皮电阻值随类器官的成熟而升高并可以维持在生理水平 ($60 \Omega \cdot \text{cm}^2$)^[7]。随着肠屏障研究的深入,肠道类器官有望建立肠道特异性病理改变与肠上皮黏膜组分之间的联系,为肠道疾病机制的进一步研究铺平道路。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

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] Barker N, van Es JH, Kuipers J, et al. Identification of stem cells in small intestine and colon by marker gene Lgr5 [J]. *Nature*, 2007, 449(7165): 1003-1007. DOI: 10.1038/nature06196.
- [3] Gregorieff A, Clevers H. Wnt signaling in the intestinal epithelium: from endoderm to cancer [J]. *Genes Dev*, 2005, 19(8): 877-890. DOI: 10.1101/gad.1295405.
- [4] Hao HX, Xie Y, Zhang Y, et al. ZNRF3 promotes Wnt receptor turnover in an R-spondin-sensitive manner [J]. *Nature*, 2012, 485(7397): 195-200. DOI: 10.1038/nature11019.
- [5] Sato T, van Es JH, Snippert HJ, et al. Paneth cells constitute the niche for Lgr5 stem cells in intestinal crypts [J]. *Nature*, 2011, 469(7330): 415-418. DOI: 10.1038/nature09637.
- [6] Braverman J, Yilmaz ÖH. From 3D organoids back to 2D Enteroids [J]. *Dev Cell*, 2018, 44(5): 533-534. DOI: 10.1016/j.devcel.2018.02.016.
- [7] Altay G, Larrañaga E, Tosi S, et al. Self-organized intestinal epithelial monolayers in crypt and villus-like domains show effective barrier function [J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1): 10140. DOI: 10.1038/s41598-019-46497-x.
- [8] Co JY, Margalef-Català M, Li X, et al. Controlling epithelial polarity: a human enteroid model for host-pathogen interactions [J]. *Cell Rep*, 2019, 26(9): 2509-2520.e4. DOI: 10.1016/j.celrep.2019.01.108.
- [9] Stelzner M, Helmrath M, Dunn JC, et al. A nomenclature for intestinal in vitro cultures [J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2012, 302(12): G1359-G1363. DOI: 10.1152/ajpgi.00493.2011.
- [10] Serra D, Mayr U, Boni A, et al. Self-organization and symmetry breaking in intestinal organoid development [J]. *Nature*, 2019, 569(7754): 66-72. DOI: 10.1038/s41586-019-1146-y.
- [11] Sachs N, Tsukamoto Y, Kujala P, et al. Intestinal epithelial organoids fuse to form self-organizing tubes in floating collagen gels [J]. *Development*, 2017, 144(6): 1107-1112. DOI: 10.1242/

- dev.143933.
- [12] Kratochvil MJ, Seymour AJ, Li TL, et al. Engineered materials for organoid systems[J]. *Nat Rev Mater*, 2019, 4: 606-622. DOI: 10.1038/s41578-019-0129-9.
- [13] Roh TT, Chen Y, Paul HT, et al. 3D bioengineered tissue model of the large intestine to study inflammatory bowel disease [J]. *Biomaterials*, 2019, 225: 119517. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2019.119517.
- [14] Spence JR, Mayhew CN, Rankin SA, et al. Directed differentiation of human pluripotent stem cells into intestinal tissue in vitro[J]. *Nature*, 2011, 470(7332): 105-109. DOI: 10.1038/nature09691.
- [15] Workman MJ, Mahe MM, Trisno S, et al. Engineered human pluripotent-stem-cell-derived intestinal tissues with a functional enteric nervous system[J]. *Nat Med*, 2017, 23(1): 49-59. DOI: 10.1038/nm.4233.
- [16] Avansino JR, Chen DC, Hoagland VD, et al. Orthotopic transplantation of intestinal mucosal organoids in rodents [J]. *Surgery*, 2006, 140(3): 423-434. DOI: 10.1016/j.surg.2006.03.012.
- [17] Dekkers JF, Wiegerinck CL, de Jonge HR, et al. A functional CFTR assay using primary cystic fibrosis intestinal organoids[J]. *Nat Med*, 2013, 19(7): 939-945. DOI: 10.1038/nm.3201.
- [18] Schwank G, Koo BK, Sasselli V, et al. Functional repair of CFTR by CRISPR/Cas9 in intestinal stem cell organoids of cystic fibrosis patients[J]. *Cell Stem Cell*, 2013, 13(6): 653-658. DOI: 10.1016/j.stem.2013.11.002.
- [19] Boj SF, Vonk AM, Statia M, et al. Forskolin-induced swelling in intestinal organoids: an in vitro assay for assessing drug response in cystic fibrosis patients [J]. *J Vis Exp*, 2017, (120): 55159. DOI: 10.3791/55159.
- [20] Yui S, Nakamura T, Sato T, et al. Functional engraftment of colon epithelium expanded in vitro from a single adult Lgr5+ stem cell[J]. *Nat Med*, 2012, 18(4): 618-623. DOI: 10.1038/nm.2695.
- [21] Zhou WJ, Geng ZH, Spence JR, et al. Induction of intestinal stem cells by R-spondin 1 and Slit2 augments chemoradioprotection[J]. *Nature*, 2013, 501(7465): 107-111. DOI: 10.1038/nature12416.
- [22] Fordham RP, Yui S, Hannan NR, et al. Transplantation of expanded fetal intestinal progenitors contributes to colon regeneration after injury[J]. *Cell Stem Cell*, 2013, 13(6): 734-744. DOI: 10.1016/j.stem.2013.09.015.
- [23] Sugimoto S, Ohta Y, Fujii M, et al. Reconstruction of the human colon epithelium in vivo[J]. *Cell Stem Cell*, 2018, 22(2): 171-176.e5. DOI: 10.1016/j.stem.2017.11.012.
- [24] Shaffiey SA, Jia H, Keane T, et al. Intestinal stem cell growth and differentiation on a tubular scaffold with evaluation in small and large animals[J]. *Regen Med*, 2016, 11(1): 45-61. DOI: 10.2217/rme.15.70.
- [25] Giobbe GG, Crowley C, Luni C, et al. Extracellular matrix hydrogel derived from decellularized tissues enables endodermal organoid culture[J]. *Nat Commun*, 2019, 10(1): 5658. DOI: 10.1038/s41467-019-13605-4.
- [26] Grebenyuk S, Ranga A. Engineering organoid vascularization [J]. *Front Bioeng Biotechnol*, 2019, 7: 39. DOI: 10.3389/fbioe.2019.00039.
- [27] Saxena K, Blutt SE, Ettayebi K, et al. Human intestinal enteroids: a new model to study human rotavirus infection, host restriction, and pathophysiology[J]. *J Virol*, 2016, 90(1): 43-56. DOI: 10.1128/JVI.01930-15.
- [28] Saxena K, Simon LM, Zeng XL, et al. A paradox of transcriptional and functional innate interferon responses of human intestinal enteroids to enteric virus infection [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2017, 114(4): E570-E579. DOI: 10.1073/pnas.1615422114.
- [29] Ettayebi K, Crawford SE, Murakami K, et al. Replication of human noroviruses in stem cell-derived human enteroids [J]. *Science*, 2016, 353(6306): 1387-1393. DOI: 10.1126/science.aaf5211.
- [30] Drummond CG, Bolock AM, Ma C, et al. Enteroviruses infect human enteroids and induce antiviral signaling in a cell lineage-specific manner[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2017, 114(7): 1672-1677. DOI: 10.1073/pnas.1617363114.
- [31] Holly MK, Smith JG. Adenovirus infection of human enteroids reveals interferon sensitivity and preferential infection of goblet cells[J]. *J Virol*, 2018, 92(9): e00250-18. DOI: 10.1128/JVI.00250-18.
- [32] Rajan A, Vela L, Zeng XL, et al. Novel segment- and host-specific patterns of enteroaggregative escherichia coli adherence to human intestinal enteroids[J]. *mBio*, 2018, 9(1): e02419-17. DOI: 10.1128/mBio.02419-17.
- [33] Park D, Arabyan N, Williams CC, et al. Salmonella typhimurium enzymatically landscapes the host Intestinal Epithelial Cell (IEC) surface glycome to increase invasion[J]. *Mol Cell Proteomics*, 2016, 15(12): 3653-3664. DOI: 10.1074/mcp.M116.063206.
- [34] Dotti I, Mora-Buch R, Ferrer-Picón E, et al. Alterations in the epithelial stem cell compartment could contribute to permanent changes in the mucosa of patients with ulcerative colitis[J]. *Gut*, 2017, 66(12): 2069-2079. DOI: 10.1136/gutjnl-2016-312609.
- [35] Ishibashi F, Shimizu H, Nakata T, et al. Contribution of ATOH1+ cells to the homeostasis, repair, and tumorigenesis of the colonic epithelium[J]. *Stem Cell Reports*, 2018, 10(1): 27-42. DOI: 10.1016/j.stemcr.2017.11.006.
- [36] Suzuki K, Murano T, Shimizu H, et al. Single cell analysis of Crohn's disease patient-derived small intestinal organoids reveals disease activity-dependent modification of stem cell properties [J]. *J Gastroenterol*, 2018, 53(9): 1035-1047. DOI: 10.1007/s00535-018-1437-3.
- [37] Rees WD, Stahl M, Jacobson K, et al. Enteroids derived from inflammatory bowel disease patients display dysregulated endoplasmic reticulum stress pathways, leading to differential inflammatory responses and dendritic cell maturation[J]. *J Crohns Colitis*, 2020, 14(7): 948-961. DOI: 10.1093/ecco-jcc/jjz194.
- [38] Okamoto R, Shimizu H, Suzuki K, et al. Organoid-based regenerative medicine for inflammatory bowel disease[J]. *Regen*

Ther, 2020, 13:1-6. DOI:10.1016/j.reth.2019.11.004.

[39] Xue X, Ramakrishnan SK, Weisz K, et al. Iron uptake via DMT1 integrates cell cycle with JAK-STAT3 signaling to promote colorectal tumorigenesis [J]. Cell Metab, 2016, 24(3):447-461. DOI:10.1016/j.cmet.2016.07.015.

[40] Li X, Nadauld L, Ootani A, et al. Oncogenic transformation of diverse gastrointestinal tissues in primary organoid culture [J]. Nat Med, 2014, 20(7):769-777. DOI:10.1038/nm.3585.

[41] Roper J, Tammela T, Cetinbas NM, et al. In vivo genome editing and organoid transplantation models of colorectal cancer and metastasis [J]. Nat Biotechnol, 2017, 35(6):569-576. DOI:10.1038/nbt.3836.

[42] De Roock W, Claes B, Bernasconi D, et al. Effects of KRAS, BRAF, NRAS, and PIK3CA mutations on the efficacy of cetuximab plus chemotherapy in chemotherapy - refractory metastatic colorectal cancer: a retrospective consortium analysis [J]. Lancet Oncol, 2010, 11(8):753-762. DOI:10.1016/S1470-2045(10)70130-3.

[43] Schütte M, Risch T, Abdavi-Azar N, et al. Molecular dissection of colorectal cancer in pre-clinical models identifies biomarkers predicting sensitivity to EGFR inhibitors [J]. Nat Commun, 2017, 8:14262. DOI:10.1038/ncomms14262.

《中华胃肠外科杂志》第六届编辑委员会成员名单

顾 问 (按姓氏拼音首字母排序):

蔡三军 黎介寿 李 宁 刘玉村 王国斌 汪建平 郑 树 周总光 朱正纲

总 编 辑 兰 平

副总编辑 (按姓氏拼音字母为序):

顾 晋 何裕隆 季加孚 李国新 秦新裕 任建安 王 杉 吴小剑 张忠涛 郑民华

编辑委员 (按姓氏拼音字母为序):

蔡建春 曹 晖 曹 杰 陈俊强 陈 凜 陈龙奇 陈路川 程向东 池 畔 崔书中
 戴冬秋 邓艳红 丁克峰 董剑宏 杜建军 杜晓辉 方文涛 房学东 冯 波 傅传刚
 傅剑华 郜永顺 龚建平 顾 晋 韩方海 何裕隆 胡建昆 胡文庆 胡志前 黄昌明
 黄 华 黄美近 黄忠诚 季加孚 姜可伟 江志伟 揭志刚 康 亮 兰 平 李国新
 李乐平 李心翔 李 勇 李幼生 李子禹 梁 寒 林国乐 刘炳亚 刘 骞 刘颖斌
 马晋平 潘 凯 潘志忠 彭俊生 钱 群 秦新裕 任东林 任建安 沈 琳 苏向前
 孙益红 所 剑 陶凯雄 童卫东 汪 欣 王存川 王海江 王 宽 王昆华 王 烈
 王 群 王 杉 王锡山 王 屹 王振军 王自强 卫 勃 卫洪波 魏 东 吴国豪
 吴小剑 武爱文 肖 毅 徐惠绵 徐瑞华 徐泽宽 许剑民 薛英威 燕 速 杨 桦
 姚宏亮 姚宏伟 姚琪远 叶颖江 于颖彦 余 江 余佩武 袁维堂 臧 潞 张 卫
 张忠涛 章 真 赵青川 赵 任 郑民华 钟 鸣 周平红 周岩冰 周志伟 朱维铭

通讯编委 (按姓氏拼音字母为序):

陈 功 陈心足 邓靖宇 高志冬 韩加刚 何国栋 何显力 何晓生 胡彦锋 黄 俊
 季 刚 江从庆 姜 军 靖昌庆 柯重伟 李 明 李太原 李晓华 李永翔 练 磊
 林宏城 刘凤林 卢 云 马君俊 戎 龙 申占龙 沈坤堂 宋 武 孙 锋 孙凌宇
 孙跃明 唐 磊 汪学非 王 颢 王 林 王 黔 王 权 王 伟 王旭东 魏 波
 吴 涛 谢忠士 严 超 严 俊 杨 力 杨盈赤 俞金龙 袁 勇 曾长青 张 宏
 张 俊 张连海 张文斌 赵 刚 赵永亮 郑朝辉 钟芸诗 周 烨 朱 骥 朱甲明

特约审稿专家 (按姓氏拼音字母为序):

柴宁莉 陈瑛罡 戴 勇 刁德昌 董 平 黄 颖 柯 嘉 刘 浩 刘 屹 刘忠臣
 楼 征 钱 锋 王海屹 王晰程 王振宁 吴秀文 吴舟桥 赵 刚 叶再生 张 鹏
 张信华