

doi: 10.3978/j.issn.1000-4432.2022.05.02

View this article at: <https://dx.doi.org/10.3978/j.issn.1000-4432.2022.05.02>

## 微流控器官芯片与类器官在眼科的应用

黄涛\*, 马淑娴\* 综述 邵毅 审校

(南昌大学第一附属医院眼科, 南昌 330006)

**[摘要]** 眼睛由屈光系统和视觉神经系统两大部分构成, 是人体最重要的感觉器官之一。眼部各组织的发育或功能异常都可能造成不同程度的视力损害。目前主要通过动物实验或体外细胞培养的方法探究眼病的病理生理机制和治疗手段, 但上述两种方法都存在一定的局限性。体外细胞培养不能完全反映器官的形态、结构和生化特征, 而动物模型的物种和遗传背景具有异质性。近年来, 随着原代组织、胚胎干细胞、诱导多能干细胞衍生的体外三维结构类器官和器官微流控芯片技术的不断发展, 构建出了与在体器官的结构、功能更为相似的器官克隆模型, 能够提供更敏感、定量、规模化的表型分析, 更好地应用于眼的发育、生理结构、疾病机制、个性化医学诊断和治疗方法等方面的研究。目前, 眼科的微流控器官芯片与类器官技术在角膜、晶状体、泪腺、视网膜结构发育和疾病模型均展现出巨大的应用潜力。

**[关键词]** 类器官; 微流控器官芯片; 疾病模型; 药物研究; 角膜; 视网膜

## Application of organoids and microfluidic organ-on-a-chip in ophthalmology

HUANG Tao\*, MA Shuxian\*, SHAO Yi

(Department of Ophthalmology, First Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330006, China)

**Abstract** The eye is composed of refractive system and visual nervous system. It is one of the most important sensory organs of the human body. The abnormal development or function of eye tissues may cause various degrees of visual impairment. At present, the pathophysiological mechanism and treatment of eye diseases are mainly explored through animal experiments and in-vitro cell culture. However, they are of certain limitations. The in-vitro cell culture cannot fully reflect the morphological, structural and biochemical characteristics of organs, whereas the animal models are heterogeneous of species and genetic background. In recent years, with the continuous development of in-vitro three-dimensional structure organoids and organ microfluidic organ-on-a-chip technology

\* 为共同第一作者

收稿日期 (Date of reception): 2022-02-21

通信作者 (Corresponding author): 邵毅, Email: freebee99@163.com

基金项目 (Foundation item): 中央引导地方科技发展资金 (20211ZDG02003); 江西省重点研发项目 (20181BBG70004, 20203BBG73059)。

This work was supported by the Central Government Guides Local Foundation for Scientific and Technological Development (20211ZDG02003) and Jiangxi Key Research and Development Project (20181BBG70004), China.

derived from primary tissues, embryonic stem cells and induced pluripotent stem cells, organ cloning models more similar to in vivo organs in terms of the structure and function have been constructed. These models can provide more sensitive, quantitative and large-scale phenotypic analysis, and can be better applied to the research of eye development, physiological structure, disease mechanism, personalized medical diagnosis and treatment. At present, microfluidic organ-on-a-chip and organoids technologies have shown great application potential in the structural development and disease models' construction of cornea, lens, lacrimal gland and retina.

**Keywords** organoid; microfluidic organ-on-a-chip; disease model; drug research; cornea; retina

以往大多使用体外细胞培养或动物模型研究眼的生理结构和疾病病理机制,但是由于体外细胞环境与体内无法完全一致,且不同物种间存在较大差异,使得这些研究在临床转化时受到一定限制。此外,临床疾病新型药物的研究十分缓慢,首先要通过动物试验再进入临床人体1~3期试验后才可能批准通过,耗资巨大且存在风险,制约了临床相关的药物研究。更为重要的是,由于存在伦理问题,动物实验和人体试验都面临着诸多限制,受到广泛争议。

这类问题催生出了类器官与微流控芯片技术,以满足更精准的临床前实验的需求。类器官是由原代组织、胚胎干细胞(embryonic stem cells, ESCs)或诱导多能干细胞(induced-pluripotent stem cells, iPSCs)衍生的体外三维结构,具有自我更新和自组织能力,并表现出与起源组织相似的器官功能<sup>[1]</sup>。微流控芯片是一种基于微流控技术,用于模拟人体器官生理环境的仿生系统,通过细胞生物学、工程学和生物材料技术的结合,可以调节浓度梯度、剪切力、细胞模式、组织边界和组织-器官相互作用等关键因素,从而模拟人体组织的结构和功能特征。类器官芯片与器官芯片的研究应用相似,都以微流控系统为基础,基于微流控技术用于模拟人体器官生理环境的仿生系统。不同之处在于器官芯片是指将人体某器官的代谢微环境在体外模拟,主要用于药物研发及筛选方面。类器官芯片是指由原代组织、ESCs或iPSCs在芯片微环境中衍生发育的各种类器官模型,可用于发育生物学、细胞生物学、疾病模型、精准医疗、新药研发及筛选、药物实验、再生医学等方面。微流控芯片是实现微流控技术的平台,二者的组合被称为组织芯片或生理微系统,其上由微通道形成网络,以可控流体贯穿整个系统,用以取代常规化学或生物实验室的各种功能<sup>[2]</sup>。由上述

技术在体外模拟构建的三维人体器官模型,具有接近人体水平的生理功能,同时能精确地控制多个系统参数,在疾病模拟和新药研发以及精准医疗等领域拥有广阔的发展前景。

目前已有许多模型开始应用类器官与微流控芯片,包括肠胃、肝、脑、肾等器官组织<sup>[3]</sup>,在眼科方面主要应用于角膜、泪腺、视网膜、晶状体等结构。本文主要综述这些技术在眼科的应用,包括眼的发育、生理、疾病病理机制、个性化医学诊断和治疗方法等方面,旨在探究眼科类器官与微流控芯片的应用前景和现有缺陷。

## 1 类器官

### 1.1 角膜类器官

角膜类器官是用于发育研究、角膜疾病建模的3D角膜模型,具有角膜移植的潜在价值,由ESCs和iPSCs分化出的各种角膜细胞所组成。

2014年,刘奕志教授团队等<sup>[4]</sup>在体外无滋养细胞的条件下成功扩增了角膜缘干细胞。通过转录因子PAX6的转导,可以将皮肤上皮干细胞转变为角膜缘干细胞样细胞,并能用于移植修复损伤的大鼠角膜。2016年,Hayashi等<sup>[5]</sup>利用诱导多能干细胞产生的眼部细胞可产生自我形成的外胚层自主性多区(self-formed ectodermal autonomous multi-zone, SEAM),其不同区内的细胞指示着眼睛的多种细胞系,反映了眼睛发育的复杂性,且利用人诱导多能干细胞产生的角膜上皮细胞可在体外培养,并用于修复受损的兔眼前部。这些角膜上皮的突破性研究为角膜类器官的出现奠定了良好的基础。

2017年,Foster等<sup>[6]</sup>首次利用人多能干细胞培育出了角膜类器官。这些类器官包含角膜上皮细胞、角膜基质细胞和角膜内皮细胞,并能通

过免疫荧光染色检测到相应的标志物, 如角膜上皮标志物KPT3、KPT14、p63, 角膜基质标志物CD34, 角膜内皮标志物COL8A1、F11R、S100A4等。此后, Susaimanickam等<sup>[7]</sup>使用更为简单有效的方法培育出了更为复杂的三维微型角膜类器官, 一定情况下能形成完整的眼球样结构。后续的检测显示微型角膜与人体角膜的形态结构一致, 并能表达角膜特异性标志物。近年的研究<sup>[8]</sup>发现: ABCB5可以用于对人多能干细胞来源的角膜类器官克隆细胞进行直接检测鉴定, 并已开始逐步应用于临床。

虽然角膜类器官可以为移植提供细胞来源, 但较长的分化时间和较大的可变性限制了这方面的应用。同样, 角膜类器官能重现角膜的组织结构, 但是由于相应的可变性, 难以用于临床前实验。相反, 类器官分化不同时期表达的不同标志物有利于角膜发育的研究, 并可能用于阐明以往无法用其他方法模拟的疾病机制<sup>[9]</sup>。同时, 角膜类器官各层含有不同的胞外基质胶原和蛋白聚糖等重要基质成分, 外层含有基底膜蛋白聚糖和VIII型胶原蛋白, 深层为基质蛋白LUM、KERA及I型和V型胶原蛋白, 这些相近的组成可以用于研究角膜的生理结构和组织层次。

## 1.2 泪腺类器官

近年来, 利用再生医学(包括多能干细胞的类器官)修复功能性泪腺的治疗理念已成为治疗重度干眼的考虑方向。

Bannier-Hélaouët等<sup>[10]</sup>将类器官细胞及其对应组织与单细胞测序技术相结合, 创建了一个稳定的实验平台。他们培育出源于小鼠和人的泪腺导管类器官, 使用神经递质进行刺激流泪, 通过对组织和类器官的单细胞mRNA测序揭示泪腺的细胞异质性。这项研究发现: Pax6基因对于维持泪腺功能关键基因的表达和类器官的生长发育是必须的, 对于泪腺发育有着不可或缺的作用。同时, 通过对900多个细胞进行单细胞测序, 检测LTF、LCN1、LYZ、LACRT等多种蛋白的表达水平, 该研究发现不同的泪腺细胞亚群表达不同的产物。此外, 通过神经递质的刺激还可以模拟流泪的过程, 将人的类器官移植到小鼠体内也可以基本发挥泪腺的功能。

Jeong等<sup>[11]</sup>着重探究泪腺类器官应用于干眼器

官替换治疗的可行性。他们使用匹罗卡品处理, 通过钙内流或蛋白质组学分析证实泪腺类器官具有分泌功能。通过制备小鼠衍生的泪腺类器官并将其移植到干眼小鼠模型的泪腺组织中, 最终证实小鼠泪腺类器官与在体正常泪腺组织特征相似, 并可用于治疗干眼。

## 1.3 视网膜类器官

视网膜类器官(retinal organoid, ROs)来自干细胞, 在诱导因子作用下可自发形成三维组织结构, 与人体视网膜结构非常相似, 对移植治疗和疾病建模领域是一大技术突破<sup>[12]</sup>。然而, ROs应用在现阶段仍存在各种缺陷, 包括培养过程长、产量不足、不同条件下产生的ROs存在巨大异质性等。具有里程碑的实验代表是Sasai实验室研究培养出的ROs, 近年来, 通过对Sasai实验的不断优化, 人胚胎干细胞来源的ROs逐渐发展, 缩短了视网膜类器官培养的时间<sup>[13-14]</sup>。

ROs有助于理解视网膜的发育生理和转录机制<sup>[15]</sup>。例如由甲状腺激素调节的锥细胞分化机制已被阐明<sup>[16]</sup>。ROs模型还可研究不同基因在眼形成和神经视网膜分化中的作用。ROs可用于观察视网膜细胞类型的动态转录过程, 有丝分裂和视网膜神经节细胞(retinal ganglion cell, RGC)减少, 随后依次形成锥细胞和杆细胞、Müller胶质细胞<sup>[17]</sup>。

### 1.3.1 视网膜类器官的应用

#### 1.3.1.1 疾病模型

近年来, 关于眼部疾病的ROs模型已经相继建立, 既可以研究疾病的病理机制还可以用于治疗。视网膜母细胞瘤(retinoblastoma, Rb)是儿童最常见的眼内恶性肿瘤, 传统模型无法准确模拟人类Rb的起源和发展, 利用基因工程人类胚胎干细胞(human embryonic stem cells, hESCs)建立的Rb器官模型与人类原发性Rb一致性高, 可用于研究Rb的起源和发病机制<sup>[18]</sup>。尽管先天性黑矇(Leber congenital amaurosis, LCA)、视网膜色素变性(retinitis pigmentosa, RP<sup>[19]</sup>)、RB、X连锁视网膜劈裂症(X-linked retinoschisis, XLRs)等模型已被建立并深入研究, 利用ROs模型能发现各个疾病有相对应的基因突变, 但这项技术仍存在许多挑战。由于ROs是相对不成熟的结构, 且缺乏视神经、视网膜血管系统和小胶质细胞, 建立晚期疾病的模型十分困难。Achberger等<sup>[20]</sup>将ROs与



视网膜芯片中人诱导多能干细胞(human induced-pluripotent stem cells, hiPSC)衍生视网膜色素上皮细胞(retinal pigment epithelium, RPE)相结合, 这种新型的微生理平台能够增强视网膜内段和外段的形成和保存以及RPE和光感受器之间的直接相互作用, 并且能够精确地控制血流灌注, 为基础应用研究提供了方向。

#### 1.3.1.2 药物研究

人类ROs技术有望比动物和二维模型更真实地模拟发育和疾病过程<sup>[21]</sup>, 能够应用于临床前药物开发阶段的靶向治疗和药物毒性评估, 并取得了可观的成果<sup>[22]</sup>。Ito等<sup>[23]</sup>研究发现维生素E相比叶黄素在保护视网膜退化上更有效。

#### 1.3.1.3 移植治疗

视网膜类器官可作为移植治疗的细胞来源, 近年来的大部分研究主要集中在光感受器视锥、视杆细胞, 也有少部分关于Müller胶质细胞和视网膜神经节细胞的研究<sup>[24-25]</sup>。根据目前多项研究结果, 多能干细胞衍生出的RPE细胞治疗年龄相关性黄斑病变(age-related macular degeneration, ARMD)和Stargard疾病安全且稳定, 为光感受器的移植安全提供了事实依据<sup>[26]</sup>。目前主要有两种移植方法, 分别为供体的细胞悬液和细胞层。McLelland等<sup>[27]</sup>使用健康视网膜组织来源的ROs治疗免疫缺陷的晚期视网膜变性大鼠模型, 研究表明移植的细胞层经历了分化和整合, 尽管微环境退化, 但其可以形成视锥视杆细胞、双极细胞、Müller胶质细胞、无长突细胞等等, 进而改善视功能。

CRISPR/Cas9技术的应用促进RP/XLRS模型的成功建立。成功构建Crx-iCreERT2红色荧光报告人ESCs系经3D培养诱导分化为表达tdTomato红色荧光的视网膜类器官, 得到的视网膜类器官同人类正常视网膜的神经细胞组成一致且发育的时间和空间顺序接近于正常的人类视网膜<sup>[28]</sup>。

#### 1.3.1.4 基因治疗

目前重组腺相关病毒(recombinant adeno-associated virus, rAAV)是在视网膜基因传递中最广泛使用的基因扩增的载体, 是遗传性视网膜营养不良性疾病靶向治疗的一种方式。患者来源的ROs可替代动物模型测试AAV介导的基因扩增效率。最新研究的优化AAV载体, 可高效转导人类视网膜类器官<sup>[29]</sup>, 成功解决了载体转导效率低的问题。

## 1.4 晶状体

Huang等<sup>[30]</sup>在1970s利用正常和白内障小鼠的晶体初步研究探索晶状体类器官。随后Yang等<sup>[31]</sup>最先通过一系列的成纤维细胞生长因子(fibroblast growth factor, FGF)、转化生长因子- $\beta$ (transforming growth factor  $\beta$ , TGF- $\beta$ )抑制和激活通路培养步骤进行“三阶段”培养, 成功从hESCs中培养出大量晶状体祖细胞及三维晶状体模型, 但该模型诱导的晶状体不能实现完全分化, 且缺乏光聚焦能力。此后研究<sup>[32]</sup>发现: 哺乳动物内源性LECs具有修复和再生能力, 能够形成具有生物视觉功能的晶状体, 其中PAX6、BMI-1是维持LECs更新的重要因素。这一发现用于治疗先天性白内障, 减少了并发症, 并对白内障形成机制有更深一步的了解。

2017年, Fu等<sup>[33]</sup>通过“煎蛋”分化方式将人多能干细胞诱导为晶状体祖细胞和类晶状体小体, 由于在其分化过程中的一个时期细胞呈煎蛋样外观而得名, 其“蛋黄”为E钙黏蛋白阳性分化细胞, 最终形成类晶状体小体, “蛋清”为E钙黏蛋白阴性支持细胞。使用相同的方法<sup>[34]</sup>, 能够研究源于人胚胎干细胞和多能干细胞的类晶状体小体的自噬活性, 用以揭示细胞器降解产生的无细胞器区与白内障的关系。目前, 类晶状体小体已经被用于研究白内障的各种病因, 包括先天性白内障和年龄相关性白内障<sup>[35-36]</sup>。对于年龄相关性白内障模型, 观察发现类晶状体小体在长期培养后会有自发性浑浊和蛋白聚集, 并且过氧化氢等氧化剂会加速该过程。

Murphy等<sup>[37]</sup>研究了一种新的分化方式, 所形成的类晶状体小体含有更少的非晶状体细胞。与以往的模型相比, 他们的模型产生了更多具有双凸外观的球形小晶状体, 并且具有更强的光聚焦能力。他们通过磁激活细胞分选法纯化细胞, 以选择表达ROR1的细胞, 研究后囊膜混浊。他们的模型可以有效地帮助理解白内障多种危险因素背后的潜在机制, 并寻找治疗靶点。

来源于LECs的晶状体类器官能够在体内诱导分化而成, 不受体外环境的干扰, 在一定条件下能够再生出具有视觉功能的晶体, 使白内障手术有了大步飞跃。但LECs增殖能力与年龄成负相关, 容易无序增长成浑浊的晶体。来源于ESCs的晶状体类器官培养步骤复杂, 先生成晶状体祖细胞再形成三

维晶状体结构, 需要严格地化学体外培养环境, 但具有更大的分化潜能, 该模型对于研究人类晶状体胚胎发育的分子机制及病理模型十分有用。

晶状体类器官模型已被应用于白内障病理生理机制、药物筛选评估、治疗等方面。手术摘除是先天性白内障的唯一治疗方案, 术中及术后并发症多, 尤其是发生炎症、弱视、后囊下浑浊的概率高。目前通过使用患者特异性iPSC建立相应的先天性白内障疾病模型, 发现近40种基因如CRYGD和CRYBB2突变可引起蛋白质聚集晶体浑浊。除遗传背景外, 晶状体发育的微环境也对先天性白内障发生起到重要作用, 该模型也为临床候选药物筛选的研究提供了一个平台<sup>[38]</sup>。通过对内源性LECs的再生研究, 一种新的微创白内障手术方法保留了晶状体囊和相关LECs的完整性, 促进了患者晶状体再生, 恢复了视力且术后并发症少, 在治疗先天性白内障方面取得了又一大突破。使用自然再生晶体治疗白内障的新策略是非常可取的<sup>[32]</sup>。

## 2 微流控芯片

### 2.1 角膜芯片

角膜芯片技术仍处于初级阶段, 但是通过对角膜芯片模型进行的简单干预已经能够重现某些疾病的特征。2018年, Bennet等<sup>[39]</sup>所开发的角膜芯片含有上皮层、基底膜和前弹力层, 并且在微流控装置中模拟泪液流动。他们使用聚二甲硅氧烷(polydimethylsiloxane, PDMS)膜培养永生化的人角膜上皮细胞, 并发现与无涂层或胶原涂层的膜相比, 种植在纤维结合蛋白涂层膜上的细胞更具活性。这种模型的上皮渗透性与人体组织十分相似。他们使用强的松和酮替芬滴眼剂对其模型进行了药物研究, 以评估其模型在药物渗透性方面的功能, 并发现与连续流动或静态条件相比, 脉动泪液流与人眼最为相似。然而, 由于芯片缺少免疫系统, 无法精确地模拟眼表的药理学免疫调节作用, 但能有效模拟非免疫过程。

Seo等<sup>[40]</sup>结合眼睑、结膜和角膜设计的角膜芯片是一个重要突破, 其设计的具有灌注系统和过量引流系统的穹顶状支架, 可以用于模拟泪液的分泌、排泄和眨眼过程。该芯片模拟角膜和结膜的复层上皮结构, 含有1层表达基底细胞特

异性标志物(p63)的细胞, 且能分泌黏蛋白, 维持眼表约6 μm厚的均匀泪膜。在这类模型中, 眨眼的剪切力将有助于角膜上皮的生长分化, 证明细胞生化网络能对机械力进行感知和反应。通过减少眨眼频率和调整环境湿度, 加速泪液蒸发, 可以直接构建干眼模型。更重要的是, 白细胞介素1β(interleukin 1β, IL-1β)、肿瘤坏死因子α(tumor necrosis factor α, TNF-α)和基质金属蛋白酶9(matrix metalloproteinase 9, MMP-9)等炎症细胞因子在该干眼模型中过量表达, 与干眼在人体内的反应一致, 因此可以用于模拟和研究干眼的机械和生物化学特征。使用内源性润滑素对该干眼模型进行测试后发现, 泪膜破裂时间延长, 泪膜破裂面积减少, 角膜荧光染色发生相应改变, 同时检测到IL-8的TNF-α、IL-1β和MMP-9等炎症因子的泪膜浓度分布明显减少, 与临床试验结果相似。这项分析表明, 角膜芯片既可以在临床前实验阶段进行“临床试验”, 也可以在分子水平上揭示相应治疗药物的治疗原理。

角膜芯片与角膜类器官相比, 更容易进行相关干预, 从而能更精确地模拟部分慢性眼部疾病, 例如结膜炎或干眼等, 并以更为具象的方式为疾病研究和药物研发提供其实可靠的依据。

### 2.2 泪腺芯片

各种新型生物工程已被用于功能器官的再生, 以模拟或治疗相应疾病。Lu等<sup>[41]</sup>针对干眼的治疗评价和发病机制研究, 建立了眼表体外三维共培养模型。该模型由兔结膜上皮和泪腺细胞球体组成, 模拟泪膜的水样层和黏蛋白层。结果显示: 与单一培养相比, 共培养系统提供了更具生理相关性的治疗反应, 表明利用泪膜-眼表系统(包括泪腺球体和结膜上皮)的各种组织的共培养系统, 可作为干眼和治疗评价的模型。

### 2.3 视网膜芯片

由于视网膜芯片能够实现细胞的多层排列以及类似血流的灌注, 特别适用于模拟类器官所缺乏的血视网膜屏障(blood-retina barrier, BRB), 尤其是血视网膜外屏障(outer blood-retina barrier, oBRB)和微毛细血管内皮细胞形成的相邻脉络膜微血管网络。最简单的oBRB芯片为双通道微流控芯片, 其中RPE和内皮细胞种植在多孔膜的对侧, 随

后通过介质泵进行灌注以重建微血管血流。

此后, Chung等<sup>[42]</sup>采用纤维蛋白水凝胶间隙代替多孔膜。为了模拟三维脉络膜血管网, 将内皮细胞与纤维蛋白凝胶混合后植入纤维蛋白间隙下方的通道中, 将RPE(ARPE19)细胞接种于凝胶壁上。血管生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)刺激后, 脉络膜内皮细胞浸润纤维蛋白间隙和RPE层, 再现了湿性老年性黄斑变性(age-related macular degeneration, AMD)的发病过程。抗血管内皮生长因子抗体贝伐单抗可以用于治疗模拟的湿性AMD, 其后续治疗可防止血管增生, 表明血-视网膜屏障芯片不仅能重现病理生理过程, 而且能重现治疗过程。

Yeste等<sup>[43]</sup>的芯片采用多层设计, 由多个渗透膜分隔, 整合了血视网膜内外屏障和视网膜神经上皮层, 并验证了其屏障功能。Achberger等<sup>[20]</sup>开发的芯片对oBRB与视网膜神经上皮层一起建模, 将所有主要的视网膜细胞类型结合在一个平台上, 并具有微流控灌注系统。通过施加抗疟疾药物氯喹和抗生素庆大霉素, 能够重现其对视网膜的毒副作用, 证明了视网膜芯片在药物测试中的适用性。这种基于人多能干细胞的视网膜芯片可能促进药物开发, 是探究视网膜疾病潜在病理机制的新途径。

视网膜芯片能够模拟视网膜的生理过程和生理屏障, 对药物效应的临床前评估十分重要<sup>[44]</sup>。Achberger等<sup>[20]</sup>发现氯喹和庆大霉素对视网膜伤害性较大, RPE可能是药物作用的生理屏障。视网膜芯片也被用于眼内填充物的开发和测试, 例如在视网膜脱离和巨大视网膜裂孔等疾病中测试硅油的填充量。近年来, 更多的研究用来开发更先进的视网膜芯片模型来模拟移植后视网膜结构和功能。细胞移植治疗功能失调的效率主要依赖供体细胞共同迁移的正确方向<sup>[45]</sup>。Mishra等<sup>[46]</sup>研究发现: 通过使用电场并提高基质细胞衍生因子1(stromal derived factor-1, SDF-1), 细胞的迁移距离和方向性都增强。光学相干断层扫描、视觉动力学测试、免疫造血化学等方法可用于确定移植效果。

### 3 结语

工程化类器官和微流控芯片势必会改变我们

未来对眼睛进行体外研究的方式。特别是, 这些技术为我们研究疾病表现的个体差异提供了可能<sup>[47]</sup>。尽管最近取得了一些进展, 但仍有一些缺点和挑战需要解决<sup>[48]</sup>。技术的多变性是类器官系统中的一个主要问题, 需要一个标准化方案来避免不同实验室报告结果的差异。同样地, 使用特性良好的商用多能干细胞系将有助于实验室间结果的阐述。此外, 部分类器官和微流控芯片血管系统的缺乏也阻碍了糖尿病<sup>[49]</sup>、高血压等全身性疾病在眼部组织的研究。而另一个重要的难题是对不同眼组织间建立相互作用的模型。角膜和视网膜芯片是体外研究药物作用<sup>[50]</sup>、治疗方法和疾病相关问题的有效工具, 但是目前的芯片仍然过于简单, 可能无法重现机体复杂的内分泌环境所导致的一系列功能变化, 测试药物的结果不一定完全可观准确。未来的发展可能会使这些芯片变得更加复杂, 能够越来越真实地反应人眼的结构和功能特征。

病毒性疾病和微生物组分析是类器官和微流控芯片用于眼科研究的2个重要领域。由于病毒与宿主相互作用的特殊性, 通常很难在动物体内模拟人类病毒性疾病。类器官由于其对组织的高度还原性, 可以用于病毒学研究<sup>[51]</sup>。而微流控芯片技术提供了一种研究微生物与人体外不同组织之间直接相互作用的方法。在未来, 眼部微生物组芯片技术有望成为眼表疾病病理生物学和临床治疗等领域的一个新途径。

最后, 只有开发相关的测量方法, 从工程模型中提取生化和物理数据, 才能充分发挥体外建模的潜力, 而组织学技术的进步在这方面发挥着重要作用。目前, 生物学的分析研究与生物衍生工程共同发展, 预示着类器官和微流控芯片在临床转化研究中的巨大潜力。

### 开放获取声明

本文适用于知识共享许可协议(Creative Commons), 允许第三方用户按照署名(BY)-非商业性使用(NC)-禁止演绎(ND)(CC BY-NC-ND)的方式共享, 即允许第三方对本刊发表的文章进行复制、发行、展览、表演、放映、广播或通过信息网络向公众传播, 但在这些过程中必须保留作者署名、仅限于非商业性目的、不得进行演绎创



作。详情请访问：<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>。

## 参考文献

- Rossi G, Manfrin A, Lutolf MP. Progress and potential in organoid research[J]. *Nat Rev Genet*, 2018, 19(11): 671-687.
- Wu Q, Liu J, Wang X, et al. Organ-on-a-chip: recent breakthroughs and future prospects[J]. *Biomed Eng Online*, 2020, 19(1): 9.
- Corrò C, Novellasdemunt L, Li VSW. A brief history of organoids[J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2020, 319(1): C151-C165.
- Ouyang H, Xue Y, Lin Y, et al. WNT7A and PAX6 define corneal epithelium homeostasis and pathogenesis[J]. *Nature*, 2014, 511(7509): 358-361.
- Hayashi R, Ishikawa Y, Sasamoto Y, et al. Co-ordinated ocular development from human iPS cells and recovery of corneal function[J]. *Nature*, 2016, 531(7594): 376-380.
- Foster JW, Wahlin K, Adams SM, et al. Cornea organoids from human induced pluripotent stem cells[J]. *Sci Rep*, 2017, 7: 41286.
- Susaimanickam PJ, Maddileti S, Pulimamidi VK, et al. Generating minicorneal organoids from human induced pluripotent stem cells[J]. *Development*, 2017, 144(13): 2338-2351.
- Watanabe S, Hayashi R, Sasamoto Y, et al. Human iPS cells engender corneal epithelial stem cells with holoclone-forming capabilities[J]. *iScience*, 2021, 24(6): 102688.
- Van Meenen J, Ni Dhubghaill S, Van den Bogerd B, et al. An overview of advanced in vitro corneal models: implications for pharmacological testing[J/OL]. *Tissue Eng Part B Rev*, 2021, Epub ahead of print.
- Bannier-Hélaouët M, Post Y, Korving J, et al. Exploring the human lacrimal gland using organoids and single-cell sequencing[J]. *Cell Stem Cell*, 2021, 28(7): 1221-1232.e7.
- Jeong SY, Choi WH, Jeon SG, et al. Establishment of functional epithelial organoids from human lacrimal glands[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2021, 12(1): 247.
- Li X, Zhang L, Tang F, et al. Retinal organoids: cultivation, differentiation, and transplantation[J]. *Front Cell Neurosci*, 2021, 15: 638439.
- 罗子明, 葛坚. 人视网膜类器官培养技术的进步与挑战[J]. *中华实验眼科杂志*, 2020, 38(10): 809-812.
- LUO Ziming, GE Jian. Current research and challenge of human retinal organoid differentiation[J]. *Chinese Journal of Experimental Ophthalmology*, 2020, 38(10): 809-812.
- Wagstaff PE, Ten Asbroek ALMA, Ten Brink JB, et al. An alternative approach to produce versatile retinal organoids with accelerated ganglion cell development[J]. *Sci Rep*, 2021, 11(1): 1101.
- Vielle A, Park YK, Secora C, et al. Organoids for the study of retinal development and developmental abnormalities[J]. *Front Cell Neurosci*, 2021, 15: 667880.
- McNerney C, Johnston RJ Jr. Thyroid hormone signaling specifies cone photoreceptor subtypes during eye development: Insights from model organisms and human stem cell-derived retinal organoids[J]. *Vitam Horm*, 2021, 116: 51-90.
- Collin J, Queen R, Zerti D, et al. Deconstructing retinal organoids: single cell RNA-Seq reveals the cellular components of human pluripotent stem cell-derived retina[J]. *Stem Cells*, 2019, 37(5): 593-598.
- Liu H, Hua ZQ, Jin ZB. Modeling human retinoblastoma using embryonic stem cell-derived retinal organoids[J]. *STAR Protoc*, 2021, 2(2): 100444.
- Li YP, Deng WL, Jin ZB. Modeling retinitis pigmentosa through patient-derived retinal organoids[J]. *STAR Protoc*, 2021, 2(2): 100438.
- Achberger K, Probst C, Haderspeck J, et al. Merging organoid and organ-on-a-chip technology to generate complex multi-layer tissue models in a human retina-on-a-chip platform[J]. *Elife*, 2019, 8: 46188.
- Aasen DM, Vergara MN. New drug discovery paradigms for retinal diseases: a focus on retinal organoids[J]. *J Ocul Pharmacol Ther*, 2020, 36(1): 18-24.
- Cora V, Haderspeck J, Antkowiak L, et al. A cleared view on retinal organoids[J]. *Cells*, 2019, 8(5): 391.
- Ito SI, Onishi A, Takahashi M. Chemically-induced photoreceptor degeneration and protection in mouse iPSC-derived three-dimensional retinal organoids[J]. *Stem Cell Res*, 2017, 24: 94-101.
- Miltner AM, Torre AL. Retinal ganglion cell replacement: current status and challenges ahead[J]. *Dev Dyn*, 2019, 248(1): 118-128.
- Eastlake K, Wang W, Jayaram H, et al. Phenotypic and functional characterization of müller glia isolated from induced pluripotent stem cell-derived retinal organoids: improvement of retinal ganglion cell function upon transplantation[J]. *Stem Cells Transl Med*, 2019, 8(8): 775-784.
- 余超, 李秋玉, 邵毅. 光感受器移植在视网膜退行性疾病中的应用研究进展[J]. *国际眼科杂志*, 2021, 21(7): 1175-1178.
- YU Chao, LI Qiuyu, SHAO Yi. Research progress of photoreceptor transplantation in retinal degenerative diseases[J]. *International Eye Science*, 2021, 21(7): 1175-1178.
- McLelland BT, Lin B, Mathur A, et al. Transplanted hESC-derived retina organoid sheets differentiate, integrate, and improve visual

- function in retinal degenerate rats[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2018, 59(6): 2586-2603.
28. 杜雨馨, 刘依宗, 阎飞跃, 等. CRISPR/Cas9技术介导Crx-iCreERT2红色荧光报告人胚胎干细胞系的构建及其三维视网膜类器官培养[J]. *中华实验眼科杂志*, 2021, 39(5): 388-397.  
DU Yuxin, LIU Yizong, YAN Feiyue, et al. Construction of Crx-iCreERT2 fluorescent reporter human embryonic stem cells by CRISPR/Cas9 technology and 3D retinal organoid culture[J]. *Chinese Journal of Experimental Ophthalmology*, 2021, 39(5): 388-397.
  29. Völkner M, Pavlou M, Büning H, et al. Optimized adeno-associated virus vectors for efficient transduction of human retinal organoids[J]. *Hum Gene Ther*, 2021, 32(13-14): 694-706.
  30. Huang FL, Russell P, Kuwabara T. Fine structure of lentoid bodies derived from normal and cataractous mouse lenses[J]. *Exp Eye Res*, 1980, 31(5): 535-541.
  31. Yang C, Yang Y, Brennan L, et al. Efficient generation of lens progenitor cells and lentoid bodies from human embryonic stem cells in chemically defined conditions[J]. *FASEB J*, 2010, 24(9): 3274-3283.
  32. Lin H, Ouyang H, Zhu J, et al. Lens regeneration using endogenous stem cells with gain of visual function[J]. *Nature*, 2016, 531(7594): 323-328.
  33. Fu Q, Qin Z, Jin X, et al. Generation of functional lentoid bodies from human induced pluripotent stem cells derived from urinary cells[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2017, 58(1): 517-527.
  34. Fu Q, Qin Z, Zhang L, et al. A new long noncoding RNA ALB regulates autophagy by enhancing the transformation of LC3BI to LC3BII during human lens development[J]. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2017, 9: 207-217.
  35. Han C, Li J, Wang C, et al. Wnt5a contributes to the differentiation of human embryonic stem cells into lentoid bodies through the noncanonical WNT/JNK signaling pathway[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2018, 59(8): 3449-3460.
  36. Qin Z, Zhang L, Lyu D, et al. Opacification of lentoid bodies derived from human induced pluripotent stem cells is accelerated by hydrogen peroxide and involves protein aggregation[J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234(12): 23750-23762.
  37. Murphy P, Kabir MH, Srivastava T, et al. Light-focusing human micro-lenses generated from pluripotent stem cells model lens development and drug-induced cataract in vitro[J]. *Development*, 2018, 145(1): dev155838.
  38. Lyu D, Zhang L, Qin Z, et al. Modeling congenital cataract in vitro using patient-specific induced pluripotent stem cells[J]. *NPJ Regen Med*, 2021, 6(1): 60.
  39. Bennet D, Estlack Z, Reid T, et al. A microengineered human corneal epithelium-on-a-chip for eye drops mass transport evaluation[J]. *Lab Chip*, 2018, 18(11): 1539-1551.
  40. Seo J, Byun WY, Alisafaei F, et al. Multiscale reverse engineering of the human ocular surface[J]. *Nat Med*, 2019, 25(8): 1310-1318.
  41. Lu Q, Yin H, Grant MP, et al. An in vitro model for the ocular surface and tear film system[J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 6163.
  42. Chung M, Lee S, Lee BJ, et al. Wet-AMD on a chip: modeling outer blood-retinal barrier in vitro[J]. *Adv Healthc Mater*, 2018.
  43. Yeste J, García-Ramírez M, Illa X, et al. A compartmentalized microfluidic chip with crisscross microgrooves and electrophysiological electrodes for modeling the blood-retinal barrier[J]. *Lab Chip*, 2017, 18(1): 95-105.
  44. Peng Z, Zhou L, Wong JKW, et al. Eye-on-a-chip (EOC) models and their role in the future of ophthalmic drug discovery[J]. *Expert Rev Ophthalmol*, 2020, 15(5): 259-261.
  45. Norden C, Lecaudey V. Collective cell migration: general themes and new paradigms[J]. *Curr Opin Genet Dev*, 2019, 57: 54-60.
  46. Mishra S, Peña JS, Redenti S, et al. A novel electro-chemotactic approach to impact the directional migration of transplantable retinal progenitor cells[J]. *Exp Eye Res*, 2019, 185: 107688.
  47. Di Zazzo A, Lee SM, Sung J, et al. Variable responses to corneal grafts: insights from immunology and systems biology[J]. *J Clin Med*, 2020, 9(2): 586.
  48. Kim J, Koo BK, Knoblich JA. Human organoids: model systems for human biology and medicine[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2020, 21(10): 571-584.
  49. 邵毅, 周琼. 糖尿病视网膜病变诊治规范——2018年美国眼科学会临床指南解读[J]. *眼科新进展*, 2019, 39(6): 501-506.  
SHAO Yi, ZHOU Qiong. Interpretation of clinical guidelines for diabetic retinopathy of the American Academy of Ophthalmology 2018[J]. *Recent Advances in Ophthalmology*, 2019, 39(6): 501-506.
  50. Wright CB, Becker SM, Low LA, et al. Improved ocular tissue models and eye-on-a-chip technologies will facilitate ophthalmic drug development[J]. *J Ocul Pharmacol Ther*, 2020, 36(1): 25-29.
  51. Tang H, Abouleila Y, Si L, et al. Human organs-on-chips for virology[J]. *Trends Microbiol*, 2020, 28(11): 934-946.

本文引用: 黄涛, 马淑娴, 邵毅. 微流控器官芯片与类器官在眼科的应用[J]. 眼科学报, 2022, 37(5): 435-442. doi: 10.3978/j.issn.1000-4432.2022.05.02

Cite this article as: HUANG Tao, MA Shuxian, SHAO Yi. Application of organoids and microfluidic organ-on-a-chip in ophthalmology[J]. *Yan Ke Xue Bao*, 2022, 37(5): 435-442. doi: 10.3978/j.issn.1000-4432.2022.05.02