

· 综述 · doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2026.02.033

网络首发 [https://link.cnki.net/urlid/50.1097.R.20251013.1242.002\(2025-10-13\)](https://link.cnki.net/urlid/50.1097.R.20251013.1242.002(2025-10-13))

患者来源口腔癌类器官的研究进展*

黄桐 张琳林[△]

(重庆医科大学附属永川医院口腔科, 重庆 402160)

[摘要] 口腔癌因其高度异质性与耐药性问题, 导致临床治疗进展受阻, 亟须开发能够真实再现个体化肿瘤特征的临床前模型。患者来源类器官模型是一种通过三维基质体外诱导生成的微器官, 这一革新技术为口腔癌精准治疗带来新的契机。该模型不仅具备生物结构的再现能力, 在反映肿瘤异质性和免疫微环境功能交互上同样具有明显优势, 为口腔癌药物筛选、放疗反应评估和肿瘤发展机制等方面的基础研究提供了新的工具。本综述系统总结近年来肿瘤类器官发展现状, 旨在为口腔癌类器官的发展方向提供思路, 探索类器官在口腔癌的基础研究及临床应用上的前景。

[关键词] 口腔肿瘤; 类器官; 肿瘤微环境; 口腔癌治疗; 综述

[中图分类号] R739.8 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2026)02-0435-06

Research progress of patient derived oral cancer organoids*

HUANG Tong, ZHANG Linlin[△]

(Department of Stomatology, The Affiliated Yongchuan Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 402160, China)

[Abstract] Oral cancer has stagnated in clinical development due to its highly heterogeneous and drug-resistant characteristics. Currently, there is an urgent need for preclinical models that can truly simulate individualized tumor characteristics. Patient-derived organoid models are micro-organs induced in vitro through three-dimensional matrices. This innovative technology brings new opportunities for precision medicine of oral cancer. This model not only has the ability to reproduce biological structures, but also has obvious advantages in the expression of tumor heterogeneity and the functional interaction of the immune microenvironment. This provides a good platform for basic research such as drug screening, radiotherapy response and tumor development mechanism of oral cancer. This review attempts to provide ideas for the development direction of oral cancer organoids by integrating the current development status of tumor organoids in recent years.

[Key words] oral tumor; organoids; tumor microenvironment; treatment of oral cancer; review

口腔鳞状细胞癌(oral squamous cell carcinoma, OSCC)是一种源自口腔黏膜复层鳞状上皮的恶性肿瘤, 约占口腔癌总数的 90% 以上。根据国际癌症研究机构(International Agency for Research on Cancer, IARC)统计数据显示^[1], 2020 年全球新增唇及口腔癌病例近 40 万。尽管其发病机制尚未明确, 多项回顾性研究表明吸烟、酗酒、咀嚼槟榔、慢性炎症刺激及人乳头瘤病毒等多种因素可能参与病理过程^[2-4]。目前, 联合治疗已成为临床主要治疗策略, 虽在一定程度上提高了患者存活率, 但由于口腔癌存在明显的肿瘤异质性和耐药性, 其治疗效果仍受限制。因此, 需要建立一种新的精准策略来预测或优化临床治疗效果, 而这一策略的实现依赖于构建高质量的临床前体外模型。

1 类器官模型的研究现状

传统 2D 培养等细胞系模型培养时间短, 支持高

通量处理, 在临床诊断及初代测序上具有较高价值, 但传代过程中容易产生遗传漂变^[5], 无法体现肿瘤在空间和结构上的异质性, 动态演变能力差; 患者来源异种移植模型(patient-derived xenograft, PDX)能够保留肿瘤部分特征, 在机制研究中有较高价值, 但成本高, 建模周期长, 无法实现高通量处理, 同时经免疫缺陷处理的动物无法模拟人体微环境, 患者来源肿瘤细胞与小鼠内环境之间存在免疫异质性, 限制了该模型在免疫研究中的实际应用^[6-7]。上述传统模型难以兼顾肿瘤细胞与人体微环境的三维结合, 导致实际应用效果受限。

类器官是一种由干细胞或其他特定细胞系在体外三维基质中培养诱导形成的复杂 3D 细胞团或微组织, 其保留了体内器官的生理特征、组织病理学和遗传特征, 细胞发生自主增殖分化, 与原代细胞结构和功能具有相似性, 同时具备遗传稳定性^[8]。结合肿瘤

* 基金项目: 重庆市永川区自然科学基金项目(2022yc-jckx20051)。

[△] 通信作者, E-mail: 165695804@qq.com。

学研究,类器官模型已展现出巨大的应用潜力。以膀胱癌为例,通过消化分离患者来源的肿瘤组织,并采用类器官培养体系进行定向分化,可在较短时间内成功构建高度保留原发肿瘤组织结构、分子分型及遗传多样性的体外模型^[9]。该方法不仅培养周期短、成本效益高,而且经稳定传代后可用于高通量药物筛选与机制研究^[7]。

当前,类器官模型通用技术正趋向成熟,已在肠、肝脏、胰腺等领域应用形成了稳定的商品化培养基,然而,该技术在口腔癌中的应用仍面临诸多挑战,包括培养成功率不稳定、缺乏肿瘤微环境(如免疫细胞或血管网络)的构建策略,以及实验流程标准化不足等。目前,相关综述多集中于类器官通用技术的进展,而对患者来源口腔癌类器官仍缺乏系统性总结与评价。

2 患者来源口腔癌类器官的研究进展

2.1 培养体系的优化

在口腔癌类器官的培养过程中,通常采用手术切除或活检获取组织标本。冲洗、解离与消化后,将所得细胞与基质胶(目前以 Matrigel 为主)混合并嵌入培养体系,待其固化后,加入含特定生长因子的液体培养基(常包括 Wnt 信号通路激活剂等成分)^[10]。近年来,在基质材料的选择与功能性培养基的优化方面均取得了重要进展。

传统 Matrigel 基质胶源自恩格莱布雷思-霍尔姆斯威姆(Engelbreth-Holm-Swarm, EHS)小鼠肉瘤可溶性基底膜提取物,虽然其功能性表现突出,但成本较高,蛋白质组分复杂且存在批次差异。此外,这类动物来源的基质材料具有明显的免疫原性问题,这在一定程度上限制了其在生物实验中的应用。近年来,脱细胞无基质培养^[11]及水凝胶类材料^[12]有望成为 Matrigel 基质胶的替代品。器官发育过程中,细胞外基质蛋白(extracellular matrix, ECM)作为培养底物可以传递信号并隔离生长因子,相关实验^[13]已经开始在人类或动物供体来源的脱细胞 ECM 中进行培养,但该方法依赖目标组织,推广受限。同时,其物理性质难以精准调控,也限制了实验的进一步展开。另一方面,水凝胶基质材料在理化性质的控制上具备优势,其能够模拟口腔黏膜基底膜成分分布,明显提高类器官存活率,并维持肿瘤标志物的高表达,同时展现出结构稳定、机械强度与孔隙率均可控的特性。类器官组织来源不同,培养所需的 ECM 成分也不尽相同^[12-14],国外部分通用型水凝胶已在小肠、多能干细胞等类器官培养中显示出优异表现^[15-16],国内学者通过构建 OHA-CEC 天然材料水凝胶,实现对简化肿瘤微环境的模拟^[17],上述研究为构建高度模拟口腔癌肿瘤微环境的水凝胶基质提供了更多可能性。

培养基功能组分方面,DRIEHUIS 等^[18]在构建口腔黏膜及患者来源头颈部鳞癌(head and neck squamous cell carcinoma, HNSCC)类器官培养中,通过增加糖原合酶激酶 3 抑制剂和成纤维细胞生长因子,得以保留正常角质形成细胞,该模型使用单纯疱

疹病毒 1 型(herpes simplex virus type 1, HSV1)和人乳头瘤病毒 16 型(human papillomavirus type 16, HPV16)进行感染,成功建立起口腔黏膜细胞的传染病类器官模型,首次验证了口腔黏膜类器官作为病理学研究体外模型的潜力。

2.2 肿瘤异质性的模拟与再现

在临床诊断中不同患者的肿瘤亚型反映了组织学上的肿瘤间异质性,同一患者同一肿瘤的不同区域(即空间异质性)或随时间变化(即时间异质性)产生不同亚群反映为肿瘤内异质性。由于肿瘤细胞这种特殊的异质性表达,尤其是肿瘤内异质性,给体外模型的构建及生物标志物研究带来了巨大挑战。

TANAKA 等^[19]通过随机对照试验检测患者来源头颈鳞状细胞类器官癌细胞标志物 CD44 和 ALDH1A1 的阳性率,与原发肿瘤临床检测结果高度一致,体现了类器官的体外模拟能力;MO 等^[20]在一项研究中构建结肠癌肝转移(colorectal cancer liver metastases, CRLM)类器官库,从组织病理学、基因组学、转录组学和单细胞测序等多组学水平分析,证实类器官模型可以高度保留亲代肿瘤的肿瘤内异质性。口腔癌方面,SASE 等^[21]针对患者来源舌癌构建类器官体外模型,在体外和异种移植模型中均高度复制原代肿瘤组织特性,尤其针对化疗后残留癌细胞同样表现出耐药机制的可遗传性。此类研究充分展现出类器官模型再现肿瘤遗传和表型多样性的优势,但受限于标本来源和随访时间等,目前大部分研究聚焦于肿瘤内空间异质性,针对肿瘤时间异质性的研究较少。上述研究显示,类器官在模拟肿瘤耐药与复发机制、预测放疗化疗结局等方面已显示出良好潜力,其在肿瘤异质性表达上具有高度还原能力,为进一步探索口腔癌靶向标志物及其作用机制开辟了新的研究方向。

2.3 基于类器官的肿瘤微环境建模与功能扩展

肿瘤微环境中的免疫成分(免疫细胞、免疫因子等)通过调控肿瘤细胞与宿主间的免疫反应,从而实现肿瘤细胞的增殖和转移。口腔癌类器官联合免疫微环境共培养模型,可以用于研究肿瘤的生长机制及对治疗(特别是免疫治疗)的反应。高度模拟患者来源口腔癌类器官中肿瘤微环境,对类器官的质量及未来应用方向具有关键影响。

2.3.1 免疫微环境共培养模型的构建与应用

NEAL 等^[22]将 100 多例人类活检/手术标本或小鼠肿瘤来源类器官通过气液交互(air-liquid interface, ALI)培养技术重现了肿瘤免疫微环境,验证表明该模型准确保留了原始肿瘤 T 细胞受体。CATTANEO 等^[23]使用干扰素 γ 因子刺激肿瘤反应性 T 细胞,随后评估肿瘤反应性 T 细胞在识别结肠癌肿瘤细胞后的功能反应(干扰素 γ 分泌和脱粒)及杀灭肿瘤类器官能力,由此开发出一种肿瘤类器官和自体外周血淋巴细胞的共培养系统方法,可以实现肿瘤反应性 T 细胞的产生和功能评估,为体外模拟基于 T 细胞的个性化免疫疗法提供策略。基于此方法,SUN 等^[24]开

发并建立出口腔黏膜黑色素瘤 (oral mucosal melanoma, OMM) 类器官和免疫细胞共培养体系, 为分析抗程序性细胞死亡蛋白-1 (programmed death-1, PD-1) 治疗或联合治疗的精准医疗设计提供优质的体外模型。此外, 神经生长因子受体中的酪氨酸激酶传导信号在抗 PD-1 治疗产生耐药性的 OMM 类器官中明显上升, 提示相关受体生长因子可能为影响耐药的关键因素。研究发现, 将多靶点酪氨酸激酶抑制剂安罗替尼与抗 PD-1 结合可以有效增强共培养体系中的免疫细胞活性。

在设计免疫疗法的共培养体系方面, SCHN-ALZGER 等^[25] 开发了一个体外模型, 用来研究嵌合抗原受体 T 细胞对患者来源结肠癌类器官的靶向毒性作用。肿瘤类器官通过共培养体系构建了稳定的肿瘤微环境, 为免疫治疗的临床前实验提供了新的方向, 为 OSCC 类器官在临床前药物筛选或药物开发提供了优化方案^[26-28]。

2.3.2 类器官模型在生物标志物发现与验证中的作用

类器官免疫微环境共培养体系不仅在肿瘤药物筛选、靶向分析及耐药机制等方面展现出明显作用, 同时也在生物标志物的鉴定与相关因子动态变化的研究中发挥着关键作用。DROST 等^[29] 利用 CRISPR/Cas9 技术对正常肠道干细胞来源类器官的结直肠癌基因进行靶向基因修饰, 异源植入小鼠体内后形成侵袭性癌特征的肿瘤。NARUSE 等^[30] 使用 4 种遗传毒性化学物质 (甲基磺酸乙酯、丙烯酰胺、二乙基亚硝胺、7,2-二甲基苯并蒽) 体外处理小鼠类器官, 检测注射型裸鼠后的致癌性, 发现这些化学物质在小鼠模型中诱发肺癌、肝癌或乳腺癌。这些通过基因编辑或化学刺激诱导正常类器官成瘤的研究提示, 基于患者来源口腔癌类器官在免疫微环境下, 可以系统性探究口腔癌早期致癌标志物及相关分子变化。

由于肿瘤类器官可以实现稳定培养及传代, 体外捕获肿瘤基因组及信号分子, 由此出现更多识别、验证生物标志物与肿瘤相关性的体外实验。阿培利司是一种针对 PIK3CA 基因突变的蛋白激酶抑制剂, 经临床试验后, 目前适用于携带 PIK3CA 突变的晚期乳腺癌患者联合用药^[31]。HNSCC 肿瘤基因图谱分析中包括 PIK3CA 基因螺旋结构突变, 伴随肿瘤坏死因子受体相关因子 3 (TNF receptor-associated factor 3, TRAF3) 的丢失和 E2F 转录因子 1 (E2F transcription factor 1, F2F1) 的扩增。MILLEN 等^[32] 在患者来源 HNSCC 类器官的队列中测试, 并未发现 PIK3CA 突变与反应之间的联系, 然后使用 CRISPR-Cas9 基因编辑技术引入 E545K 突变后, 类器官模型对阿培利司的敏感性增加。遗憾的是, 标本来源于不同位置及组织学亚型, 无法构建令人满意的免疫微环境, 这对肿瘤免疫应答机制的相关实验可能产生不同程度的影响。SHI 等^[33] 对 30 例患者来源的非小细胞肺癌组织和 35 例异种移植模型进行类器官培养, 通过全外

显子测序和 RNA 测序分析等方法, 验证其基本模拟了亲代肿瘤的组织学特征, 同时保留了致癌性。使用表皮生长因子/成纤维生长因子和 MEK 靶向疗法对类器官模型进行药物测试, 保留了亲代肿瘤对靶向治疗的敏感性。

以上研究均提示, 口腔癌类器官在验证生物标志物中具有一定有效性, 这为药物筛选及药物开发的临床前模型提供了新的思路, 在口腔癌个性化治疗方面具备广阔前景。

2.4 肿瘤类器官的应用场景

2.4.1 基因功能解析

肿瘤与许多疾病一样, 局部基因表达发生变化, 而基因编辑技术可以通过纠正有害碱基突变或破坏致病基因的方法从而达到治疗目的。与锌指核酸酶/转录激活因子效应物不同, CRISPR-Cas9 作为第三代基因编辑技术, 其通过改变一小段引导 RNA 的碱基序列, 将 Cas 蛋白质引导到基因组中的指定位置, 以实现基因的敲除和嵌入, 从而具备精确高效的基因编辑功能, 扩大基因编辑技术的适用性^[34-35]。DROST 等^[29] 使用正常肠道干细胞类器官培养后进行结直肠癌靶向基因修饰后的致癌性研究, 证明 CRISPR-Cas9 基因编辑技术在肿瘤类器官中的应用加速了驱动基因验证。OSCC 中常见 FAT1、CASP8、CDKN2A 和 NOTCH1 突变, 而人类相关肉瘤病毒癌基因和磷酸肌醇 3-激酶 A 是唯一明显突变的致癌基因^[36], 建立口腔黏膜组织类器官模型, 通过基因编辑技术敲除或嵌入口腔癌相关基因, 可以分析口腔癌在基因组学上的生长转移机制, 开发新型免疫疗法。这种基因功能解析应用也提出更加严峻的挑战, 即口腔癌类器官模型与对应基因编辑技术的标准化流程。

2.4.2 药敏预测及耐药机制解析

患者来源的肿瘤类器官为体外研究耐药机制提供了可靠工具。DRIEHUIS 等^[18] 利用该类器官模型对颈部鳞癌进行了多种治疗 (包括顺铂、卡铂、西妥昔单抗及放疗) 的药物敏感性测试。结果显示, 在所有测试组中, 肿瘤类器官对顺铂的敏感性均高于卡铂。实验结果中值得注意的是, 对西妥昔单抗不敏感的颈部鳞癌类器官通常在表皮生长因子下游携带基因突变 (包括 PIK3CA、KRAS、HRAS 或 BRAF), 这一结果提示在使用西妥昔单抗治疗 HNSCC 前进行基因检测的重要性。在前文 OMM 类器官实验研究中, 已有结果表明酪氨酸激酶信号通路是抗 PD-1 治疗产生耐药性的关键因素^[21]。这些研究均提示, 口腔癌类器官具有体外药物敏感性预测及耐药机制研究方面的应用价值。尽管肿瘤类器官模型在药物筛选及耐药机制研究上已经取得重要成果^[37], 类器官免疫微环境共培养取得阶段性进展^[38], 但想要达到更加精确的预测解析能力, 需要对类器官共培养体系进一步优化且兼具高通量实验能力, 以提高临床应用中的准确性和时效性。

2.4.3 放射治疗

对口腔癌尤其是晚期患者通常予以联合治疗,在辅助放疗阶段,口腔癌类器官可用于临床前评估放疗敏感性,以期在达到预期治疗效果的同时,最大限度地降低放疗不良反应,为患者提供个性化精准治疗。NEAL 等^[22]对患者来源 HNSCC 类器官放射试验中验证了顺铂和卡铂的放射增敏潜力,基于初次治疗及辅助治疗的差异,其模型具备指导意义,同时得出西妥昔单抗在所有放射组中均具备辐射保护作用的实验结果;LI 等^[15]在患者来源 HNSCC 类器官的 7 例放射治疗体外模型进行了详细阐述,有 3 例体外暴露放射疗法的类器官具有耐受性,这与临床结局高度相符。遗憾的是,标本来源条件受限,上述实验存在样本量不足的问题,且不同 HNSCC 标本存在一定程度上的异质性。当然,口腔鳞癌临床复发因素也是多方面的,但口腔癌类器官具备预测放疗效果和指导放疗实施的能力,开发放疗增敏剂等方面具备同样潜力。

2.5 挑战

2.5.1 肿瘤微环境标准化

临床口腔癌的发生主要集中于牙龈、舌部、硬软腭等带菌环境,因此标本污染比例较高,影响培养成功率及培养质量。有实验采用抗生素冲洗标本或混入基础培养基的方法解决细菌、真菌或支原体污染问题^[39-41]。除了标本伴感染的问题,肿瘤微环境的组成同样是复杂的。目前患者来源的鳞癌类器官在标本解离消化后主要来源于上皮细胞,为实现高度模拟肿瘤微环境,还需要更多免疫细胞、微血管系统、细胞外基质等各种其他细胞、细胞因子和生长因子共培养。HOLKOM 等^[42]通过建立口腔癌类器官模型探究肿瘤微环境调节血管生成机制,发现肿瘤相关成纤维细胞(cancer-associated fibroblasts, CAFs)共培养可以促进血管内皮细胞生成。值得注意的是烟酰胺 N-甲基转移酶的过表达增强了成纤维细胞中血管生成相关基因的转录表达。与正常细胞组织一样,血管系统对肿瘤细胞的生长代谢至关重要,因此在肿瘤类器官培养体系中建立功能性血管系统也是亟待解决的问题。HOMAN 等^[43]报道了一种在毫流控芯片上流动培养肾脏类器官的方法并成功产生血管网络,通过对比,该模型具有更成熟的足细胞和管状结构;PHAM 等^[44]诱导多能干细胞分化内皮细胞同时生成全脑类器官共培养,体外呈现出血管化。移植到免疫缺陷小鼠后,人类 CD31⁺血管化结构已经渗透至类器官中心处。与临床实际口腔癌相比,体外类器官的微环境匮乏不可避免地会限制模型大小甚至产生不同程度的异质性,影响肿瘤潜在生长转移变化和药物作用机制。

2.5.2 基质优化

如前文所述,目前主流基质胶 Matrigel 来源于小鼠肉瘤,其无法完全模拟人体组织结构上的微环境,同时存在免疫原性。除了天然合成水凝胶制备外^[14],GIOBBE 等^[45]使用猪小肠黏膜及黏膜下脱细胞组织来源的细胞外基质水凝胶成功验证并培养人类胃、肝、胰腺和小肠等类器官;MOLLICA 等^[46]构建了一

种由人体乳腺细胞外基质组成的 3D 水凝胶,并验证其可以维持肿瘤类器官的形成。这些研究为口腔癌基质开发提供了新思路,有利于口腔癌类器官微环境的扩展,增强传代稳定性,降低培养成本。

2.5.3 技术融合

肿瘤类器官属于新型 3D 细胞培养模型,可实现良好的肿瘤细胞结构再现及各组间的功能交互作用。但与体内环境相比,基质与生长因子相对静态的封闭式培养无法高度模拟肿瘤细胞或生长因子的动态变化。近年来,器官芯片^[47]与此类 3D 细胞模型产生技术融合,可以在芯片平台的基础上设计微流体控制装置^[48],实现更加真实的肿瘤微环境,再现更复杂的肿瘤-微生物作用机制,这或许能将体外培养推向另一个阶段。RONALDSON-BOUCHARD 等^[49]使用组织器官芯片将成熟的人类心脏、肝脏、骨骼和皮肤组织通过微循环血管流连接起来,通过选择性可渗透内皮屏障与主血管流分隔,实现相互作用的功能交互,成功再现抗肿瘤药物阿霉素在体内的药代动力学和药效学特征。另一项研究比较了肿瘤标本手动切碎与显微设备切割的处理效果,显示两种不同预处理方式在类器官的生存力、免疫组分和免疫治疗反应上具有相似性^[50],但显微切割设备的效率和机械标准化优势或许可以推动肿瘤类器官高通量实验的发展。除了培养技术的融合,在监测方面 SHEMBREY 等^[51]采用光学条形码的荧光谱系技术对患者来源的肠癌类器官进行纵向跟踪。根据已知被证明的基因构建体离散组合进行标记,稳定整合到基因组并传递至原始细胞,其独特的光学条形码可以实现对单个细胞谱系进行纵向监测,这对验证肿瘤内异质性是一种更加高效便捷的技术。上述研究均通过医学工程技术与肿瘤类器官模型培养相融合,为实现肿瘤类器官的高通量应用提供研究基础,为口腔癌类器官培养提出新的发展方向。

3 总结

患者来源的口腔癌类器官的相关研究是衔接基础研究与应用的重要纽带,本文系统综述了目前研究中的革新技术及其应用价值,通过培养体系的优化和动态功能扩展等过程精准模拟肿瘤异质性和微环境交互作用。作为药物筛选及放疗的临床前模型,可以为个性化医疗提供实验基础,保障精准医疗实施。结合基因编辑技术动态分析肿瘤生长转移和耐药机制,可进一步探究生物标志物的核心通路。另一方面,口腔癌类器官目前仍存在微环境因子欠缺及流程缺乏标准化等问题,这同样限制了肿瘤机制研究和临床应用。未来将通过技术融合手段,实现高质量强时效的模型建立,同时需要建立口腔癌类器官共享生物库,在临床前进行高通量筛选,使患者获益。

利益冲突:所有作者声明不存在利益冲突

参考文献

[1] SUNG H, FERLAY J, SIEGEL R L, 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] IRANI S, BARATI I, BADIEI M. Periodontitis and oral cancer: current concepts of the etiopathogenesis[J]. *Oncol Rev*, 2020, 14(1): 465.
- [3] LI C, DONG X, LI B. Tumor microenvironment in oral squamous cell carcinoma[J]. *Front Immunol*, 2024, 15: 1485174.
- [4] 涂晓敏, 任建君, 赵宇. 头颈鳞状细胞癌危险因素及遗传风险的研究进展[J]. *临床耳鼻咽喉头颈外科杂志*, 2022, 36(5): 391-396.
- [5] MURAKAMI S, TANAKA H, NAKAYAMA T, et al. Similarities and differences in metabolites of tongue cancer cells among two- and three-dimensional cultures and xenografts[J]. *Cancer Sci*, 2021, 112(2): 918-931.
- [6] DRIEHUIS E, KRETZSCHMAR K, CLEVERS H. Establishment of patient-derived cancer organoids for drug-screening applications[J]. *Nat Protoc*, 2020, 15(10): 3380-3409.
- [7] LI W, ZHOU Z, ZHOU X, et al. 3D biomimetic models to reconstitute tumor microenvironment in vitro: spheroids, organoids, and tumor-on-a-chip[J]. *Adv Healthc Mater*, 2023, 12(18): e2202609.
- [8] BLEIJS M, VAN DE WETERING M, CLEVERS H, et al. Xenograft and organoid model systems in cancer research[J]. *EMBO J*, 2019, 38(15): e101654.
- [9] YANG R, WANG S, LI Z, et al. Patient-derived organoid co-culture systems as next-generation models for bladder cancer stem cell research[J]. *Cancer Lett*, 2025, 625: 217793.
- [10] WANG Y, SUN Y. Engineered organoids in oral and maxillofacial regeneration[J]. *iScience*, 2023, 26(1): 105757.
- [11] KOZLOWSKI M T, CROOK C J, KU H T. Towards organoid culture without matrigel[J]. *Commun Biol*, 2021, 4(1): 1387.
- [12] GJOREVSKI N, SACHS N, MANFRIN A, et al. Designer matrices for intestinal stem cell and organoid culture[J]. *Nature*, 2016, 539(7630): 560-564.
- [13] KEANE T J, SWINEHART I T, BADYLAK S F. Methods of tissue decellularization used for preparation of biologic scaffolds and in vivo relevance[J]. *Methods*, 2015, 84: 25-34.
- [14] AISENBREY E A, MURPHY W L. Synthetic alternatives to Matrigel[J]. *Nat Rev Mater*, 2020, 5(7): 539-551.
- [15] LI Q, QI G, LIU X, et al. Universal peptide hydrogel for scalable physiological formation and bioprinting of 3D spheroids from human induced pluripotent stem cells[J]. *Adv Func Mater*, 2021, 31(41): 40-46.
- [16] CURVELLO R, KERR G, MICATI D J, et al. Engineered plant-based nanocellulose hydrogel for small intestinal organoid growth[J]. *Adv Science*, 2020, 7(1): 21-35.
- [17] 李建辉, 宋恒涛, 吴姝涵, 等. 一种用于构建体外 3D 肿瘤类器官模型的水凝胶及其制备方法和应用; CN 118359827 A[P]. 2024-07-19.
- [18] 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.
- [19] TANAKA N, OSMAN A A, TAKAHASHI Y, et al. Head and neck cancer organoids established by modification of the CTOS method can be used to predict in-vivo drug sensitivity[J]. *Oral Oncol*, 2018, 87: 49-57.
- [20] MO S, TANG P, LUO W, et al. Patient-derived organoids from colorectal cancer with paired liver metastasis reveal tumor heterogeneity and predict response to chemotherapy[J]. *Adv Sci*, 2022, 9(31): e2204097.
- [21] SASE M, SATO T, SATO H, et al. Comparative analysis of tongue cancer organoids among patients identifies the heritable nature of minimal residual disease[J]. *Develop Cell*, 2025, 60(3): 396-413.
- [22] NEAL J T, LI X, ZHU J, et al. Organoid modeling of the tumor immune microenvironment[J]. *Cell*, 2018, 175(7): 1972-1988.
- [23] CATTANEO C M, DIJKSTRA K K, FANCHI L F, et al. Tumor organoid-T-cell coculture systems[J]. *Nat Protoc*, 2020, 15(1): 15-39.
- [24] SUN L, KANG X, JU H, et al. A human mucosal melanoma organoid platform for modeling tumor heterogeneity and exploring immunotherapy combination options[J]. *Sci Adv*, 2023, 9(43): eadg6686.
- [25] SCHNALZGER T E, DE GROOT M H, ZHANG C, et al. 3D model for CAR-mediated cytotoxicity using patient-derived colorectal cancer organoids[J]. *EMBO J*, 2019, 38(12): e100928.
- [26] YAO N, JING N, LIN J, et al. Patient-derived tumor organoids for cancer immunotherapy: culture techniques and clinical application[J]. *Invest New Drugs*, 2025, 43(2): 394-404.

- [27] KASTENSCHMIDT J M, SCHROERS-MARTIN J G, SWORDER B J, et al. A human lymphoma organoid model for evaluating and targeting the follicular lymphoma tumor immune microenvironment[J]. *Cell Stem Cell*, 2024, 31(3): 410-420.
- [28] LORENZO-MARTIN L F, BROGUIERE N, LANGER J, et al. Patient-derived mini-colons enable long-term modeling of tumor-microenvironment complexity[J]. *Nat Biotech*, 2025, 43(5): 727-736.
- [29] DROST J, VAN JAARVELD R, PONSIOEN B, et al. Sequential cancer mutations in cultured human intestinal stem cells[J]. *Nature*, 2015, 521(7550): 43-47.
- [30] NARUSE M, MASUI R, OCHIAI M, et al. An organoid-based carcinogenesis model induced by in vitro chemical treatment[J]. *Carcinogenesis*, 2020, 41(10): 1444-1453.
- [31] RUGO H S, BARDIA A, GRADISHAR W J, et al. Expert consensus on treating HR⁺/HER2⁻ metastatic breast cancer based on real-world practice patterns observed in the RETRACT survey of US oncologists[J]. *Breast*, 2025, 82: 104485.
- [32] MILLEN R, DE KORT W W B, KOOMEN M, et al. Patient-derived head and neck cancer organoids allow treatment stratification and serve as a tool for biomarker validation and identification[J]. *Med*, 2023, 4(5): 290-310.
- [33] SHI R, RADULOVICH N, NG C, et al. Organoid cultures as preclinical models of non-small cell lung cancer[J]. *Clin Cancer Res*, 2019, 26(5): 1162-1174.
- [34] LI T, YANG Y, QI H, et al. CRISPR/Cas9 therapeutics: progress and prospects[J]. *Signal Transduc Target Ther*, 2023, 8(1): 36.
- [35] ANDREATTA F, HENDRIKS D, ARTEGI-ANI B. Human organoids as an emerging tool for genome screenings[J]. *Annu Rev Biomed Eng*, 2025, 27(1): 157-183.
- [36] CHAI A W Y, LIM K P, CHEONG S C. Translational genomics and recent advances in oral squamous cell carcinoma[J]. *Semin Cancer Biol*, 2020, 61: 71-83.
- [37] MAO Y, WANG W, YANG J, et al. Drug repurposing screening and mechanism analysis based on human colorectal cancer organoids[J]. *Protein Cell*, 2024, 15(4): 285-304.
- [38] TIAN H, REN J, MOU R, et al. Application of organoids in precision immunotherapy of lung cancer (review)[J]. *Oncology Lett*, 2023, 26(5): 484.
- [39] 尚政军, 王鑫森, 赵晖, 等. 一种复合型口腔鳞癌类器官模型及其制备方法与应用: CN 119162084 A [P]. 2024-12-20.
- [40] 邵思源, 周榕, 钟来平, 等. 一种口腔鳞癌颈部淋巴结转移灶类器官的培养基及构建方法: CN 115786264 A [P]. 2023-03-14.
- [41] 谢莹, 姚茜, 韦正波, 等. 一种舌癌类器官的培养基、培养方法及鉴定方法: CN 114958753 B [P]. 2024-03-26.
- [42] HOLKOM M, YANG X, LI R, et al. Fibroblast regulates angiogenesis in assembled oral cancer organoid: a possible role of NNMT [J]. *Oral diseases*, 2024, 30(8): 4982-4992.
- [43] HOMAN K A, GUPTA N, KROLL K T, et al. Flow-enhanced vascularization and maturation of kidney organoids in vitro[J]. *Nat Methods*, 2019, 16(3): 255-262.
- [44] PHAM M T, POLLOCK K M, ROSE M D, et al. Generation of human vascularized brain organoids[J]. *Neuroreport*, 2018, 29(7): 588-593.
- [45] GIOBBE G G, CROWLEY C, LUNI C, et al. Extracellular matrix hydrogel derived from decellularized tissues enables endodermal organoid culture [J]. *Nat Commun*, 2019, 10(1): 5658.
- [46] MOLLICA P A, BOOTH-CREECH E N, REID J A, et al. 3D bioprinted mammary organoids and tumouroids in human mammary derived ECM hydrogels[J]. *Acta Biomater*, 2019, 95: 201-213.
- [47] HUANG C, SANAIE F, VERDURMEN W P R, et al. The application of organs-on-a-chip in dental, oral, and craniofacial research[J]. *J Dent Res*, 2023, 102(4): 364-375.
- [48] MOSKAL K, KHURANA N, SIEGERT L, et al. Modeling cancer-microbiome interactions in vitro: a guide to co-culture platforms[J]. *Inter J Cancer*, 2025, 156(11): 2053-2067.
- [49] RONALDSON-BOUCHARD K, TELES D, YEAGER K, et al. A multi-organ chip with matured tissue niches linked by vascular flow[J]. *Nat Biomed Eng*, 2022, 6(4): 351-371.
- [50] CORDTS S C, YUKI K, HENAO ECHEVERRI M F, et al. Microdissection tools to generate organoids for modeling the tumor immune microenvironment[J]. *Microsyst Nanoeng*, 2024, 10(1): 126.
- [51] SHEMBREY C, SMITH J, GRANDIN M, et al. Longitudinal monitoring of intra-tumoural heterogeneity using optical barcoding of patient-derived colorectal tumour models [J]. *Cancers*, 2022, 14(3): 581.