

DOI: 10.13376/j.cblls/20250128

文章编号: 1004-0374(2025)10-1331-08

肝类器官的应用研究进展

纪留芸^{1#}, 丁岩汀^{1,2#}, 何志远¹, 徐祎春^{1,2*}, 韩峻松^{1*}

(1 上海生物芯片有限公司, 生物芯片上海国家工程研究中心, 上海 201203; 2 同济大学附属同济医院病理科, 上海 200065)

摘要: 肝类器官作为一种体外三维功能性组织模型, 具有长期稳定传代培养和自组织的特点, 并具有异质性和独特的形态学特征。在模拟肝组织结构与功能方面, 肝类器官具有显著优势, 在肝脏疾病发病机制研究、药物开发、再生医学以及精准医疗领域展现出巨大的潜力。其核心优势在于能够高度模拟肝脏的复杂结构与代谢功能, 突破传统研究模型的局限, 缩短药物研发周期。本综述主要聚焦于组织来源和诱导多能干细胞 (induced pluripotent stem cells, iPSCs) 来源的肝类器官的技术进展和应用前景, 并探讨当前肝类器官研究面临的机遇和挑战。

关键词: 肝类器官; 模型构建; 再生医学; 药物筛选; 精准医疗

中图分类号: Q813; R318 **文献标志码:** A

Advances in the application research of hepatic organoids

Ji Liu-Yun^{1#}, Ding Yan-Ting^{1,2#}, He Zhi-Yuan¹, Xu Yi-Chun^{1,2*}, Han Jun-Song^{1*}

(1 Shanghai Biochip Co., Ltd., National Engineering Center for Biochip at Shanghai, Shanghai 201203, China;

2 Department of Pathology, Tongji Hospital Affiliated to Tongji University, Shanghai 200065, China)

Abstract: Hepatic organoids, as a type of three-dimensional functional tissue model *in vitro*, possess the capabilities of long-term stable passaging and self-organization, and exhibit heterogeneity as well as unique morphological characteristics. Hepatic organoids hold significant advantages in mimicking the structure and function of liver tissue, demonstrating great potential in the study of liver disease pathogenesis, drug development, regenerative medicine, and precision medicine. Their core strength lies in the ability to highly simulate the complex structure and metabolic functions of the liver, breaking through the limitations of traditional research models and shortening the drug development cycle. This review focuses on the technological advancements and application prospects of hepatic organoids derived from tissue sources and induced pluripotent stem cells (iPSCs), and discusses the opportunities and challenges currently faced in hepatic organoid research.

Key words: hepatic organoids; model construction; regenerative medicine; drug screening; precision medicine

肝脏是人体最大的腺体器官, 承担着代谢、解毒、蛋白质合成、胆汁生成等 500 多种重要的生理功能, 对维持生命活动至关重要^[1-3]。肝脏疾病是全球公共卫生领域的重大挑战, 约 8.44 亿人受肝病困扰, 全球每年约有 200 万人死于肝病, 占全球死亡人数的 4%; 其中, 慢性肝病及其引发的肝硬化导致约 100 万人死亡, 肝癌约导致 90 万人死亡^[4-6]。因此, 研究肝脏的发育、再生和发病机制对于治疗肝脏疾病具有重要意义。

在肝脏生理和病理研究方面, 研究人员一直在

寻求更有效的研究工具和治疗方法。近年来, 肝类器官模型的发展引发了广泛的关注和讨论, 其能高度模拟肝癌和多种慢性肝病, 弥补传统模型的局限

收稿日期: 2025-02-19; 修回日期: 2025-06-25

基金项目: 国家自然科学基金青年基金项目(82203232);
2024年度上海市协同创新项目(HCXBCY-2024-031)

[#]共同第一作者

^{*}通信作者: E-mail: junsong_han@shbiochip.com (韩峻松); crystalxyc@hotmail.com (徐祎春)

性。(1) 肝类器官是研究慢性肝病动态进展的重要工具, 可通过长期培养, 逐步诱导突变, 模拟“炎症-纤维化-癌变”全过程^[7, 8]。(2) 在肝癌研究中, 肝类器官能够模拟肿瘤微环境, 填补细胞系与动物模型的空白, 推动个性化治疗和药物开发^[9, 10]。(3) 90% 的肝病药物在动物实验中有效但临床失败, 如非酒精性脂肪性肝炎 (non-alcoholic steatohepatitis, NASH) 治疗药物司隆色替 (Selonsertib)^[11, 12], 而肝类器官可提高预测准确性, 是弥补临床前与临床鸿沟的有效工具。(4) 罕见肝病 (如 Wilson 病、 α -1 抗胰蛋白酶缺乏症) 患者样本少, 肝类器官可无限扩增, 替代稀缺研究样本^[13, 14]。

本综述聚焦于肝类器官研究的进展和应用, 着重探讨两种主要来源的肝类器官: 组织来源和诱导多能干细胞 (induced pluripotent stem cells, iPSCs) 来源肝类器官。通过深入探讨这两种来源的肝类器官模型的建立、应用、前景以及面临的挑战, 突出它们在药物筛选、疾病模拟和精准医疗中的关键作用, 同时也指出未来研究的潜在方向。

1 肝类器官的来源

肝类器官的广义概念涵盖自单一细胞类型至多细胞协同培养体系、跨越肝脏生理稳态到病理状态的三维微型组织模型。凡在体外三维环境中复现肝脏特定结构或功能单元的 (如肝实质代谢模块或胆管引流系统), 均可纳入肝类器官范畴^[15-17]。肝类器官具有长期稳定传代培养和自组织的特点, 并具有异质性和独特的形态学特征^[18-20], 有望成为疾病建模、药物筛选及再生医学的有力工具。肝类器官

有多种来源, 可由干细胞和原代肝细胞等体外培养得到 (图 1)。

1.1 组织来源的肝类器官

组织来源的肝类器官可分为健康类器官和肿瘤类器官^[21]。肝癌类器官是肝类器官技术在肿瘤研究领域的延伸应用, 共享 3D 培养与仿生微环境技术基础^[9]。Hans Clevers 团队首次报道利用小鼠健康胆管细胞或损伤诱导后的 $Lgr5^+$ 肝细胞获得肝类器官^[22]。Broutier 等^[23] 首次利用肝癌患者组织培养出保留肿瘤异质性的类器官, 推动个性化癌症药筛模型发展。

组织来源的肝类器官有两个明显优势, 一是可按需提取合适表型和功能成熟度的原始组织^[24]; 二是在体外长期培养过程中, 基因变异率低, 能稳定维持原样本的遗传特性^[22]。通过调整细胞类型和微环境, 组织来源的肝类器官可模拟不同肝脏状态。然而, 该模型面临细胞来源有限、成熟度和复杂性不足以及难以标准化等挑战^[25]。

1.2 iPSCs 来源的肝类器官

iPSCs 的出现为生物医学领域带来革命性的机遇。iPSCs 可来源于多种组织, 包括皮肤成纤维细胞、外周血淋巴细胞和造血细胞^[26-28], 其中皮肤成纤维细胞是 iPSCs 的主要来源^[29]。有研究发现, 来源于外周血 T 淋巴细胞的 iPSCs 能更有效地分化为肝细胞^[30]。Takebe 等^[31] 首次利用 iPSCs 培育出血管化和功能化的人肝类器官。

iPSCs 来源的肝类器官模型具有多个优势。首先, iPSCs 能够模拟肝脏细胞多样性和复杂性, 通过诱导分化为不同类型的肝细胞, 可更准确地模拟

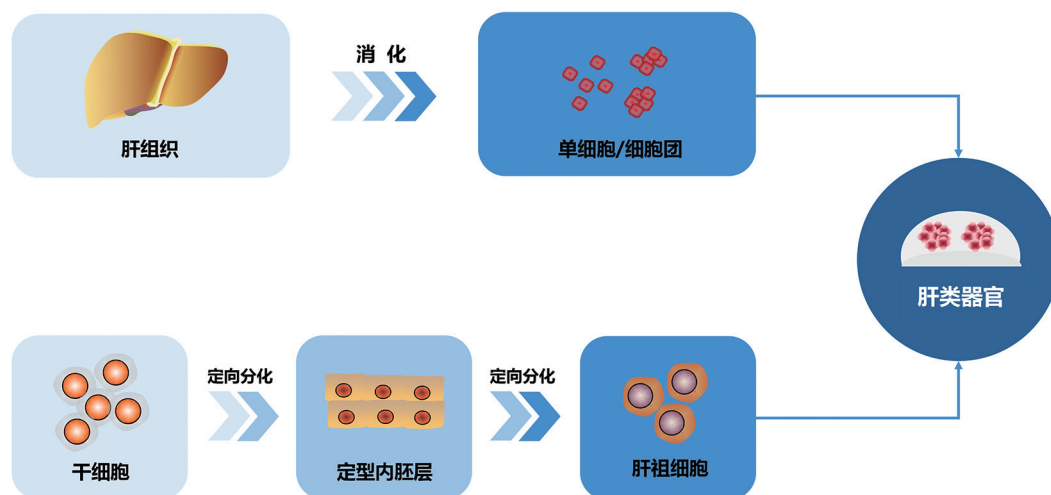


图1 肝类器官的来源

肝脏的生理和代谢。其次, 具有不依赖于原发组织的优势, 患者来源的 iPSCs 可以无限重复地产生多种细胞类型^[32]。然而, 该模型面临细胞分化效率、一致性和成熟度问题^[33]。未来的研究将聚焦于攻克这些难题, 以提升模型的可靠性和功能性。

2 基于肝类器官技术的方法学研究

2.1 肝类器官芯片

类器官芯片技术融合了微流控技术和类器官技术^[34], 在仿生微环境中实现干细胞精准分化和类器官构建^[35]。秦建华团队开发了一种多类器官芯片系统, 同时培养 hiPSCs 来源的肝脏和心脏类器官, 评估抗抑郁药物的安全性^[36]。此外, 该团队建立了 hiPSCs 来源的肝-胰岛类器官互作体系^[37], 模拟 2 型糖尿病的主要病理特征和二甲双胍的治疗效果, 展示出新型类器官互作芯片体系在疾病模拟和药物评价等方面的可行性和应用前景。

2022 年 8 月, FDA 批准了首个完全基于类器官芯片研究获得临床前数据的新药 (NCT04658472) 进入临床试验。这标志着类器官芯片实验首次取代传统动物实验, 并获官方认可。2023 年 5 月, 恒瑞医药 HRS-1893 获批开展临床试验, 成为国内首个使用类器官芯片数据获批临床试验申请的小分子药物。未来, 肝类器官芯片有望在替代动物实验、评估药品有效性和安全性方面取得突破性进展。

2.2 微阵列3D打印肝类器官

微阵列 3D 生物打印技术使得肝类器官的构建更加复杂和功能性, 通过微阵列生物打印技术实现细胞和肝类器官的空间可控沉积, 显著提升生产效率和功能性^[38]。邓宏魁团队利用微阵列技术, 开发了基于球体的生物打印技术, 成功构建高活性、功能性的肝类器官, 并显著提高肝衰竭小鼠的生存率和肝功能^[39]。Shrestha 等^[40]通过微阵列生物 3D 打印技术将由 iPSCs 分化而来的前肠细胞均匀打印在柱板上, 开发了一种高通量、可重复的肝类器官生成方法。

2.3 微图案化技术生成肝类器官

微图案化是指通过微流控技术或光刻技术, 精确控制细胞的分布和排列, 构建具有特定结构的类器官。陈璞团队展示了一种利用微图案技术生成新型肝类器官的方法, 该方法能够在多孔板中以均匀的形态和确定的大小及位置, 高效且可重复地形成肝类器官。这些类器官概括了人类胎儿肝脏发育的一些关键特征, 包括特异性基因和蛋白质的表达、

糖原储存、脂质积累以及蛋白质分泌^[41, 42]。

类器官芯片方法在模拟体内动态微环境方面具有优势, 适合多种细胞类型的共培养和复杂微环境的构建, 但其技术复杂, 成本较高。微图案化方法能够精确控制细胞排列和构建复杂结构, 适合构建具有特定结构的类器官, 但其多为平面设计, 3D 扩展通常需要额外技术。微阵列方法在高通量类器官培养方面表现出色, 能够快速生成大量均一类器官, 但存在缺氧风险, 大尺寸类器官可能发生核心坏死^[43-45]。

3 肝类器官的应用

肝类器官是一项引人注目的技术, 不仅为深入了解肝脏生理和病理提供研究平台, 还在多个领域发挥重要作用。本节将深入探讨肝类器官在这些应用领域的重要性和潜力 (图 2)。

3.1 生理模拟与疾病研究

在肝脏生理学研究中, 肝类器官能够重现体内肝脏发育情况, 为生理功能研究提供理想平台。Takanori Takebe 团队利用 iPSCs 生成“多区域”肝类器官, 首次实现人源性体外肝脏分区构建, 包括门静脉周围、中间区和中央静脉周围, 并整合胆管细胞、内皮细胞及巨噬细胞^[46]。Toshrio Sato 团队利用成人肝细胞首次生成具有代谢功能的肝类器官, 具备葡萄糖合成、尿素代谢、胆汁酸分泌等核心功能^[47], 为模拟肝脏生理提供新的可能。

肝类器官可模拟脂肪肝、肝纤维化和肝硬化的发展过程。Ouchi 等^[48]利用游离脂肪酸处理肝类器官再现脂肪性肝炎的关键特征。张海燕团队利用



图2 肝类器官的应用领域

酒精处理肝类器官, 模拟人类酒精性肝病 (alcohol-associated liver disease, ALD)^[49], 为探索 ALD 的发病机制和个性化治疗提供新模型。

在肝癌研究中, 肝癌类器官可模拟肝癌发展过程, 研究其生长、转移和药物反应。乳腺癌易感基因 1 相关蛋白 1 (breast cancer susceptibility gene 1-associated protein 1, BAP1) 是一种肿瘤抑制因子^[50]。Artegiani 等^[51]将肝类器官模型与基因敲除技术相结合, 探究 BAP1 的功能。Sun 等^[52]在肝类器官中引入原癌基因, 模拟肝癌和胆管癌的发生。未来, 可借鉴此模型, 引入致癌因子模拟肝癌的发生及发展过程。

在病毒-宿主互作研究中, Zhao 等^[53]建立人源肝胆管类器官 SARS-CoV-2 感染模型, 揭示了病毒对胆管上皮细胞的感染机制及对胆管功能的扰乱, 为新冠病毒细胞嗜性、致病机制研究和后续药物研发提供重要工具。Li 等^[54]利用正常人源肝组织构建肝类器官, 建立戊肝病毒体外复制和感染模型, 推动戊肝病毒与宿主互作及抗病毒药物筛选研究。

3.2 药物筛选与安全性评估

在药物筛选中, Wu 等^[55]利用人肝类器官模型建立抗纤维化药物的高通量筛选系统, 筛选出伊马替尼 (Imatinib) 和 SD208 这两种具有显著抗纤维化效果的药物。Hans Clevers 团队利用肝类器官筛选出治疗非酒精性脂肪肝的潜在新靶点: 脂肪酸去饱和酶 2 基因 (fatty acid desaturase 2, *FADS2*), 为药物筛选和新药研发提供新思路^[56]。

在药物安全性评估中, 利用肝类器官评估药物毒性和安全性, 有助于及早识别潜在有害效应, 降低临床试验风险。Shinozawa 等^[57]构建 iPSCs 来源肝类器官进行高保真药物性肝损伤筛查, 并对 238 种上市药物的活性、胆汁淤积程度和线粒体毒性进行评估。

3.3 精准医疗与生物样本库

开发原发性肝癌组织来源的类器官可助力个性化医疗^[58]。肿瘤异质性是精准医疗的关键障碍, 类器官为解析肿瘤异质性带来突破^[59]。Yang 等^[60]建立了来自 144 位患者的 399 个肿瘤位点的类器官生物样本库, 通过大规模靶向药筛选, 揭示肝癌药敏分子分型。Ji 等^[61]建立一个包含 65 个人类肝癌类器官的生物库, 进行药物蛋白基因组学分析, 实现药物反应高精度预测, 评估潜在药物联合治疗方案。

3.4 生物标志物发现

Elbadawy 团队从不同发病程度的 NASH 模型

小鼠中获得肝类器官, 发现在中度和重度 NASH 小鼠来源的肝类器官中, I 型胶原和 α -平滑肌肌动蛋白表达上调, 而重度 NASH 小鼠来源的肝类器官发生上皮-间充质转化 (EMT)。RNA 测序显示, *Areg*、*Igf2bp2*、*Hmga2* 和 *Gpr137b* 在所有 NASH 肝类器官中上调^[62], 这些基因有望成为诊断和治疗生物标志物。

3.5 再生医学

肝脏具有较高的先天再生能力, 适合进行再生治疗^[63]。肝脏再生被视为肝移植的替代手段用于终末期肝病治疗^[64], 而肝类器官为再生医学提供了潜在策略。惠利健团队实现大规模制备由海藻酸钠微胶囊包裹的可增殖人肝细胞类器官, 在肝衰竭小鼠模型中证明了其治疗有效性^[65]; Ludovic Vallier 团队利用离体常温灌注模型, 将胆管类器官注入人源肝脏肝内管, 成功修复胆管上皮损伤并维持其功能, 为类器官新疗法的临床转化提供了理论依据^[66]。

表 1 对肝类器官应用进行了汇总。

4 肝类器官面临的挑战和策略创新

尽管肝类器官模型在肝脏研究和医学应用方面取得显著进展, 但仍面临以下挑战。

4.1 疾病复杂性模拟

肝类器官在模拟肝脏疾病的复杂性和完整性方面仍存在差距, 并且目前几乎所有肝类器官在肝癌方面的研究都是关于原发性肝癌的, 转移性肝癌很少被研究。Skardal 等^[67]将结肠癌细胞接种于肝类器官制备肝癌类器官, 用于模拟肝转移肿瘤模型, 虽然不能完全模拟肝转移肿瘤的实际情况, 但证明其是一种比二维细胞更好的转移性肿瘤模型, 值得进一步研究。

4.2 标准化和重复性

为确保结果的可重复性, 肝类器官的制备和使用需要更多标准化。目前, 类器官培养中人为因素过多, 培养基和生长因子的种类和添加时机还在探索阶段, 难以统一标准; 类器官存在大小和批次差异^[68], 以及类器官中细胞的位置、形态和功能的动态变化难以可视化^[69]。这些都阻碍了肝类器官的标准化, 而标准化不足也制约了其商业化转化。

值得注意的是, 2023 年, 中国研究型医院学会批准发布《人肝祖细胞类器官构建、质量控制与保藏操作指南》等三项团体标准, 为肝胆类器官的构建、质量控制与保藏提供明确的操作指引。2024 年, 中国细胞生物学学会发布《人肝、胆、胰类器

表1 肝类器官应用汇总

肝类器官来源	发现及应用	参考文献
iPSCs	生成“多区域”肝类器官, 首次实现人源性体外肝脏分区构建	[46]
成人肝细胞	首次生成具有代谢功能的肝类器官	[47]
健康和患者来源的iPSCs	构建多细胞肝类器官, 再现脂肪性肝炎的关键特征	[48]
人脂肪基质细胞/干细胞	使用酒精处理类器官, 再现酒精性肝病的病理生理	[49]
人体肝组织手术样本	应用基因编辑技术在正常人类胆管细胞类器官中实现 <i>BAP1</i> 作用缺失, 探究 <i>BAP1</i> 的抑癌机制	[51]
成纤维细胞转分化	向正常肝类器官中引入原癌基因, 分别模拟人类肝细胞癌和肝内胆管细胞癌的发生	[52]
人体肝组织手术样本	建立人源肝胆管类器官的SARS-CoV-2感染模型	[53]
胎儿和成人肝脏活检样本	成功建立戊肝病毒体外复制和感染模型	[54]
iPSCs	建立高通量筛选系统, 筛选出伊马替尼和SD208两种具有显著抗纤维化效果的药物	[55]
人类胎儿肝细胞	模拟脂肪变性, 筛选出治疗非酒精性脂肪肝的潜在新靶点	[56]
iPSCs	构建肝类器官, 用于高保真药物性肝损伤筛查, 评估药物活性、胆汁淤积程度等	[57]
肝癌组织	建立生物样本库, 解析肝癌瘤内异质性, 阐明耐药新机制, 给出联合用药方案	[60]
肝癌组织	建立生物样本库, 重现肝癌组织的蛋白基因组学分子分型, 实现药物反应高精度预测, 评估潜在的药物联合治疗方案	[61]
小鼠肝脏组织	利用不同发病阶段的NASH小鼠来源的肝类器官研究NASH发病机制	[62]
可增殖的人肝细胞	实现大规模制备海藻酸钠微胶囊包裹的可增殖人肝细胞类器官, 并在肝衰竭模型中证明其腹腔移植治疗的有效性	[65]
人胆管细胞	证明胆管类器官可以修复胆管上皮损伤并维持其功能	[66]

官构建技术指南》, 对人源肝、胆、胰类器官的构建、传代、保藏及复苏提出相关指导意见。这些政策将推动类器官技术在基础医学和临床研究中的应用。

4.3 结构和功能的完整性

肝脏由多种细胞类型组成, 且细胞有特定的三维排列方式, 肝类器官很难完全重现细胞组成的多样性和排列方式。Jian 等^[70]通过多细胞 3D 生物打印技术体外构建了具有仿生小叶结构的肝类器官。此外, 肝类器官在成熟度和功能完整性方面难以完全模拟成熟肝脏。Meritxell Huch 团队首次将肝细胞、胆管细胞和间充质细胞这三种肝功能所必需的主要细胞类型整合, 构建肝类器官“组合体”, 成功复现肝脏门管区复杂的三维结构, 精准模拟胆汁运输系统。这一“组合体”不仅填补了肝门管区建模的技术空白, 还为研究胆道疾病(如胆汁淤积性肝病和胆管纤维化)的发病机制及开发干预手段提供了全新工具^[71]。

4.4 血管化与灌注难题

肝类器官缺乏功能性血管网络, 限制其生长和功能。随着类器官体积增大, 营养和氧气供应及代谢废物清除成为挑战。为解决这一难题, 吴庆明团队尝试优化培养配方, 成功培育出血管化心脏类器官和肝类器官^[72]。Yan 等^[73]利用 3D 打印技术构建小叶状肝类器官, 通过负载血管内皮生长因子和共

培养人脐静脉内皮细胞成功诱导血管化, 有效改善动物的肝功能。类器官与宿主血管系统的快速吻合是移植成功的关键^[74]。Fan 等^[75]通过非实质细胞移植策略, 在芯片上构建预血管化人肝胆类器官, 显著提升血管网络复杂度; 类器官移植后能与宿主血管有效连接, 具备修复肝组织和胆管损伤的能力, 为再生医学带来新希望。

4.5 细胞来源和多样性

肝类器官模型的细胞来源和多样性仍是挑战, 未来研究方向包括寻找更广泛和多样的细胞来源, 以满足不同患者的特定需求。此外, 类器官培养中可能存在杂质细胞的干扰, 如在构建肿瘤类器官时, 正常组织细胞的混入会影响类器官的纯度和培养效果, 需加以解决^[76]。

5 总结与展望

肝类器官在体外模拟肝脏细胞组成、三维结构和生理功能方面展现出巨大潜力, 为肝脏生理和疾病研究提供重要工具。然而, 该模型仍面临复杂性模拟不足、结构和功能完整性欠缺、标准化和可复制性需求以及血管化与灌注难题等挑战。目前, 有多种 3D 培养解决方案, 如生物组装、类器官芯片、微阵列技术和微图案化技术等, 各有特点和应用场景。

肝类器官的临床应用处于从实验室向床旁转化的关键阶段。肝类器官是再生医学领域的重要工具,尤其在肝脏移植和组织修复方面,与传统细胞移植相比,肝类器官预组织化,能形成更接近真实组织的结构和功能,治疗效果更佳。基因编辑技术的应用使肝类器官在遗传性肝病治疗中展现出巨大潜力,通过修复遗传缺陷,可提高移植后肝的功能和存活率。此外,肝类器官在个性化治疗中具有重要应用前景,可用于高通量药物筛选和预测患者对特定药物的反应。

未来,需要在技术方面进行优化和创新,包括血管化与微环境优化、动态培养与器官芯片整合、AI驱动的自动化与精准建模等,有望通过技术融合构建“全功能肝脏模拟体”,覆盖从分子到器官尺度的研究需求。总之,肝类器官技术的未来充满希望,通过持续研究和创新以及政策支持,有望在生物医学领域带来革命性变化。

[参 考 文 献]

- [1] Münte E, Hartmann P. The role of short-chain fatty acids in metabolic dysfunction-associated steatotic liver disease and other metabolic diseases. *Biomolecules*, 2025, 15: 469
- [2] Almazroo OA, Miah MK, Venkataramanan R. Drug metabolism in the liver. *Clin Liver Dis*, 2017, 21: 1-20
- [3] Choi WG, Han J, Kim JH, et al. eIF2 α phosphorylation is required to prevent hepatocyte death and liver fibrosis in mice challenged with a high fructose diet. *Nutr Metab (Lond)*, 2017, 14: 48
- [4] Ramachandran P, Matchett KP, Dobie R, et al. Single-cell technologies in hepatology: new insights into liver biology and disease pathogenesis. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2020, 17: 457-72
- [5] Ehrlich A, Duche D, Ouedraogo G, et al. Challenges and opportunities in the design of liver-on-chip microdevices. *Annu Rev Biomed Eng*, 2019, 21: 219-39
- [6] Hahn JW, Woo S, Park J, et al. Global, regional, and national trends in liver disease-related mortality across 112 countries from 1990 to 2021, with projections to 2050: comprehensive analysis of the WHO mortality database. *J Korean Med Sci*, 2024, 39: e292
- [7] De Siervi S, Turato C. Liver organoids as an *in vitro* model to study primary liver cancer. *Int J Mol Sci*, 2023, 24: 4529
- [8] Hu Y, Geng Q, Wang L, et al. Research progress and application of liver organoids for disease modeling and regenerative therapy. *J Mol Med (Berl)*, 2024, 102: 859-74
- [9] Song X, Hou K, Zhou H, et al. Liver organoids and their application in liver cancer research. *Regen Ther*, 2024, 25: 128-37
- [10] Matsui T, Shinozawa T. Human organoids for predictive toxicology research and drug development. *Front Genet*, 2021, 12: 767621
- [11] Marshall LJ, Bailey J, Cassotta M, et al. Poor translatability of biomedical research using animals - a narrative review. *Altern Lab Anim*, 2023, 51: 102-35
- [12] Harrison SA, Wong VW, Okanoue T, et al. Selonsertib for patients with bridging fibrosis or compensated cirrhosis due to NASH: results from randomized phase III STELLAR trials. *J Hepatol*, 2020, 73: 26-39
- [13] Pérez-Luz S, Lalchandani J, Matamala N, et al. Quantitative lipid profiling reveals major differences between liver organoids with normal Pi*M and deficient Pi*Z variants of α -1-antitrypsin. *Int J Mol Sci*, 2023, 24: 12472
- [14] Schene IF, Joore IP, Oka R, et al. Prime editing for functional repair in patient-derived disease models. *Nat Commun*, 2020, 11: 5352
- [15] Marsee A, Roos FJM, Verstegen MMA, et al. Building consensus on definition and nomenclature of hepatic, pancreatic, and biliary organoids. *Cell Stem Cell*, 2021, 28: 816-32
- [16] Liu S, Cheng C, Zhu L, et al. Liver organoids: updates on generation strategies and biomedical applications. *Stem Cell Res Ther*, 2024, 15: 244
- [17] Harrison SP, Siller R, Tanaka Y, et al. Scalable production of tissue-like vascularized liver organoids from human PSCs. *Exp Mol Med*, 2023, 55: 2005-24
- [18] Dong R, Zhang B, Zhang X. Liver organoids: an *in vitro* 3D model for liver cancer study. *Cell Biosci*, 2022, 12: 152
- [19] Zhu Y, Tang S, Yuan Q, et al. Integrated characterization of hepatobiliary tumor organoids provides a potential landscape of pharmacogenomic interactions. *Cell Rep Med*, 2024, 5: 101375
- [20] Xu H, Lyu X, Yi M, et al. Organoid technology and applications in cancer research. *J Hematol Oncol*, 2018, 11: 116
- [21] Guan Y, Xu D, Garfin PM, et al. Human hepatic organoids for the analysis of human genetic diseases. *JCI Insight*, 2017, 2: e94954
- [22] Huch M, Dorrell C, Boj SF, et al. *In vitro* expansion of single Lgr5⁺ liver stem cells induced by Wnt-driven regeneration. *Nature*, 2013, 494: 247-50
- [23] Broutier L, Mastrogianni G, Verstegen MM, et al. Human primary liver cancer-derived organoid cultures for disease modeling and drug screening. *Nat Med*, 2017, 23: 1424-35
- [24] Patterson M, Chan DN, Ha I, et al. Defining the nature of human pluripotent stem cell progeny. *Cell Res*, 2012, 22: 178-93
- [25] Harrison SP, Baumgarten SF, Verma R, et al. Liver organoids: recent developments, limitations and potential. *Front Med (Lausanne)*, 2021, 8: 574047
- [26] Takenaka C, Nishishita N, Takada N, et al. Effective generation of iPS cells from CD34⁺ cord blood cells by inhibition of p53. *Exp Hematol*, 2010, 38: 154-62
- [27] Alawad A, Alhazzaa O, Altuwajri S, et al. Generation of

- human iPS cell line SKiPSc1 from healthy human neonatal foreskin fibroblast cells. *Stem Cell Res*, 2016, 17: 158-60
- [28] Phillips MJ, Wallace KA, Dickerson SJ, et al. Blood-derived human iPS cells generate optic vesicle-like structures with the capacity to form retinal laminae and develop synapses. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2012, 53: 2007-19
- [29] Mun SJ, Ryu JS, Lee MO, et al. Generation of expandable human pluripotent stem cell-derived hepatocyte-like liver organoids. *J Hepatol*, 2019, 71: 970-85
- [30] Kajiwarra M, Aoi T, Okita K, et al. Donor-dependent variations in hepatic differentiation from human-induced pluripotent stem cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2012, 109: 12538-43
- [31] Takebe T, Sekine K, Enomura M, et al. Vascularized and functional human liver from an iPSC-derived organ bud transplant. *Nature*, 2013, 499: 481-4
- [32] Takebe T, Zhang RR, Koike H, et al. Generation of a vascularized and functional human liver from an iPSC-derived organ bud transplant. *Nat Protoc*, 2014, 9: 396-409
- [33] Baxter M, Withey S, Harrison S, et al. Phenotypic and functional analyses show stem cell-derived hepatocyte-like cells better mimic fetal rather than adult hepatocytes. *J Hepatol*, 2015, 62: 581-9
- [34] Park SE, Georgescu A, Huh D. Organoids-on-a-chip. *Science*, 2019, 364: 960-5
- [35] Takebe T, Zhang B, Radisic M. Synergistic engineering: organoids meet organs-on-a-chip. *Cell Stem Cell*, 2017, 21: 297-300
- [36] Yin F, Zhang X, Wang L, et al. HiPSC-derived multi-organoids-on-chip system for safety assessment of antidepressant drugs. *Lab Chip*, 2021, 21: 571-81
- [37] Tao T, Deng P, Wang Y, et al. Microengineered multi-organoid system from hiPSCs to recapitulate human liver-islet axis in normal and type 2 diabetes. *Adv Sci (Weinh)*, 2022, 9: e2103495
- [38] Kim Y, Kang M, Mamo MG, et al. Liver organoids: current advances and future applications for hepatology. *Clin Mol Hepatol*, 2025, 31: S327-48
- [39] Li G, He J, Shi J, et al. Bioprinting functional hepatocyte organoids derived from human chemically induced pluripotent stem cells to treat liver failure. *Gut*, 2025, 74: 1150-64
- [40] Shrestha S, Vanga MG, Jonnadula C, et al. Reproducible, scale-up production of human liver organoids (HLOs) on a pillar plate platform via microarray 3D bioprinting. *Methods Mol Biol*, 2025, 15: 603
- [41] Xu X, Jiang S, Gu L, et al. High-throughput bioengineering of homogenous and functional human-induced pluripotent stem cells-derived liver organoids via micropatterning technique. *Front Bioeng Biotechnol*, 2022, 10: 937595
- [42] Jiang S, Xu F, Jin M, et al. Development of a high-throughput micropatterned agarose scaffold for consistent and reproducible hPSC-derived liver organoids. *Biofabrication*, 2022, 15: 015006
- [43] Zhou L, Huang J, Li C, et al. Organoids and organs-on-chips: recent advances, applications in drug development, and regulatory challenges. *Med*, 2025, 6: 100667
- [44] Kang SY, Kimura M, Shrestha S, et al. A pillar and perfusion plate platform for robust human organoid culture and analysis. *Adv Healthc Mater*, 2024, 13: e2302502
- [45] Zhang Y, Li G, Wang J, et al. Small joint organoids 3D bioprinting: construction strategy and application. *Small*, 2024, 20: e2302506
- [46] Reza HA, Santangelo C, Iwasawa K, et al. Multi-zonal liver organoids from human pluripotent stem cells. *Nature*, 2025, 641: 1258-67
- [47] Igarashi R, Oda M, Okada R, et al. Generation of human adult hepatocyte organoids with metabolic functions. *Nature*, 2025, 641: 1248-57
- [48] Ouchi R, Togo S, Kimura M, et al. Modeling steatohepatitis in humans with pluripotent stem cell-derived organoids. *Cell Metab*, 2019, 30: 374-84.e6
- [49] Bi G, Zhang X, Li W, et al. Modeling alcohol-associated liver disease in humans using adipose stromal or stem cell-derived organoids. *Cell Rep Methods*, 2024, 4: 100778
- [50] Masclef L, Ahmed O, Estavoyer B, et al. Roles and mechanisms of BAP1 deubiquitinase in tumor suppression. *Cell Death Differ*, 2021, 28: 606-25
- [51] Artegiani B, van Voorthuisen L, Lindeboom RG, et al. Probing the tumor suppressor function of BAP1 in CRISPR-engineered human liver organoids. *Cell Stem Cell*, 2019, 24: 927-43. e6
- [52] Sun L, Wang Y, Cen J, et al. Modelling liver cancer initiation with organoids derived from directly reprogrammed human hepatocytes. *Nat Cell Biol*, 2019, 21: 1015-26
- [53] Zhao B, Ni C, Gao R, et al. Recapitulation of SARS-CoV-2 infection and cholangiocyte damage with human liver ductal organoids. *Protein Cell*, 2020, 11: 771-5
- [54] Li P, Li Y, Wang Y, et al. Recapitulating hepatitis E virus-host interactions and facilitating antiviral drug discovery in human liver-derived organoids. *Sci Adv*, 2022, 8: eabj5908
- [55] Wu X, Jiang D, Yang Y, et al. Modeling drug-induced liver injury and screening for anti-hepatofibrotic compounds using human PSC-derived organoids. *Cell Regen*, 2023, 12: 6
- [56] Hendriks D, Brouwers JF, Hamer K, et al. Engineered human hepatocyte organoids enable CRISPR-based target discovery and drug screening for steatosis. *Nat Biotechnol*, 2023, 41: 1567-81
- [57] Shinozawa T, Kimura M, Cai Y, et al. High-fidelity drug-induced liver injury screen using human pluripotent stem cell-derived organoids. *Gastroenterology*, 2021, 160: 831-46. e10
- [58] Li L, Knutsdottir H, Hui K, et al. Human primary liver cancer organoids reveal intratumor and interpatient drug response heterogeneity. *JCI Insight*, 2019, 4: e121490
- [59] Marx V. Closing in on cancer heterogeneity with

- organoids. *Nat Methods*, 2024, 21: 551-4
- [60] Yang H, Cheng J, Zhuang H, et al. Pharmacogenomic profiling of intra-tumor heterogeneity using a large organoid biobank of liver cancer. *Cancer Cell*, 2024, 42: 535-51.e8
- [61] Ji S, Feng L, Fu Z, et al. Pharmaco-proteogenomic characterization of liver cancer organoids for precision oncology. *Sci Transl Med*, 2023, 15: eadg3358
- [62] Elbadawy M, Yamanaka M, Goto Y, et al. Efficacy of primary liver organoid culture from different stages of non-alcoholic steatohepatitis (NASH) mouse model. *Biomaterials*, 2020, 237: 119823
- [63] Wei S, Tang J, Cai X. Founder cells for hepatocytes during liver regeneration: from identification to application. *Cell Mol Life Sci*, 2020, 77: 2887-98
- [64] Nicolas CT, Hickey RD, Chen HS, et al. Liver regenerative medicine: from hepatocyte transplantation to bioartificial livers and bioengineered grafts. *Stem Cells*, 2017, 35: 42-50
- [65] Yuan X, Wu J, Sun Z, et al. Preclinical efficacy and safety of encapsulated proliferating human hepatocyte organoids in treating liver failure. *Cell Stem Cell*, 2024, 31: 484-98. e5
- [66] Sampaziotis F, Muraro D, Tysoe OC, et al. Cholangiocyte organoids can repair bile ducts after transplantation in the human liver. *Science*, 2021, 371: 839-46
- [67] Skardal A, Devarasetty M, Rodman C, et al. Liver-tumor hybrid organoids for modeling tumor growth and drug response *in vitro*. *Ann Biomed Eng*, 2015, 43: 2361-73
- [68] Thompson WL, Takebe T. Generation of multi-cellular human liver organoids from pluripotent stem cells. *Methods Cell Biol*, 2020, 159: 47-68
- [69] Telles-Silva KA, Pacheco L, Komatsu S, et al. Applied hepatic bioengineering: modeling the human liver using organoid and liver-on-a-chip technologies. *Front Bioeng Biotechnol*, 2022, 10: 845360
- [70] Jian H, Li X, Dong Q, et al. *In vitro* construction of liver organoids with biomimetic lobule structure by a multicellular 3D bioprinting strategy. *Cell Prolif*, 2023, 56: e13465
- [71] Dowbaj AM, Sljukic A, Niksic A, et al. Mouse liver assembloids model periportal architecture and biliary fibrosis. *Nature*, 2025, 644: 473-82
- [72] Abilez OJ, Yang H, Guan Y, et al. Gastruloids enable modeling of the earliest stages of human cardiac and hepatic vascularization. *Science*, 2025, 388: eadu9375
- [73] Yan J, Ye Z, Lu Y, et al. 3D bioprinting lobule-like hepatorganoids with induced vascularization for orthotopic implantation. *Mater Today Bio*, 2025, 31: 101515
- [74] Chen EP, Toksoy Z, Davis BA, et al. 3D bioprinting of vascularized tissues for *in vitro* and *in vivo* applications. *Front Bioeng Biotechnol*, 2021, 9: 664188
- [75] Fan H, Shang J, Li J, et al. High-throughput formation of pre-vascularized hiPSC-derived hepatobiliary organoids on a chip via nonparenchymal cell grafting. *Adv Sci (Weinh)*, 2025, 12: e2407945
- [76] Driehuis E, Kretzschmar K, Clevers H. Establishment of patient-derived cancer organoids for drug-screening applications. *Nat Protoc*, 2020, 15: 3380-409