

DOI: 10.3724/cbls.2026114

CSTR: 32203.14.cbls.2026114

文章编号: 1004-0374(2026)09-1535-14

· 专刊: 杰出女科学家(下) ·



王红梅, 中国科学院动物研究所副所长、研究员。中国动物学会生殖生物学分会主任委员、英国剑桥大学胎盘研究中心学术委员会委员, 干细胞与生殖生物学国家重点实验室前主任。国家杰出青年基金项目获得者, 国家百千万人才工程“有突出贡献中青年专家”, 国家自然科学基金重大项目和创新研究群体项目负责人。任 *Stem Cell Rep* 副主编, *Cell Stem Cell*、*Dev Cell*、*Cell Prolif* 和 *Cell Rep Med* 等期刊编委。课题组长期聚焦灵长类早期胚胎发育规律解析与体外模拟研究, 在 *Science*、*Nature*、*Cell* 等期刊发表论文 150 余篇, 被 *Science* 亮点评述、4 次被 *Nature* 和 *Science* 期刊 News 栏目报道、2 次在 *Science* 和 *Cell* 期刊封面重点介绍, 入选 *Nat Methods* 年度方法、中国生命科学十大进展。受邀为 *Nat Rev Mol Cell Biol*、*Trends Cell Biol*、*Curr Opin Cell Biol* 等期刊撰写综述, 担任国际干细胞研究学会 Anne McLaren 报告人。曾获中国科学院杰出科技成就奖、谈家桢生命科学创新奖、全国妇幼健康科学技术奖自然科学一等奖、中国科学院李佩教师奖等。培养的研究生多人获国家级人才项目资助。

灵长类早期胚胎发育规律解析与体外模拟

郭致远^{1,2,3#}, 吴庭逸^{1,2,3#}, 王红梅^{1,2,3*}

(1 中国科学院动物研究所, 器官再生与智造全国重点实验室, 北京 100101; 2 中国科学院大学, 北京 100049; 3 北京干细胞与再生医学研究院, 北京 100101)

摘要: 早期胚胎发育是决定全生命周期健康的关键事件。然而, 受限于人类体内发育的胚胎难于被观察和研究以及胚胎体外培养的严格伦理界限, 当前有关早期胚胎发育的时空动态调控以及构建体外研究模型等方面仍面临巨大挑战。为此, 本文系统回顾了灵长类(人和非人灵长类)早期胚胎发育的关键细胞和分子事件, 并探讨了基于干细胞的胚胎模型(“类胚胎”)的构建, 以及计算生物学在模型优化中的前置预测作用。本文旨在确立以发育规律为导向、以体外模拟为手段的研究范式, 为未来搭建标准化、高保真的发育与疾病研究模型提供系统参考。

关键词: 早期胚胎发育; 灵长类; 胚胎体外培养体系; 类胚胎

中图分类号: Q813.1; Q954.4

文献标识码: A

Elucidation and *in vitro* modeling of early primate embryonic development

GUO Zhi-Yuan^{1, 2, 3#}, WU Ting-Yi^{1, 2, 3#}, WANG Hong-Mei^{1, 2, 3*}

(1 Key Laboratory of Organ Regeneration and Reconstruction, Institute of Zoology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China; 2 University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China; 3 Beijing Institute for Stem Cell and Regenerative Medicine, Beijing 100101, China)

Abstract: Early embryonic development is a core biological event that dictates lifelong health. However, directly elucidating the dynamic morphogenetic mechanisms of human embryos *in vivo* remains highly challenging due to technical barriers and strict ethical constraints. In recent years, breakthroughs in single-cell and spatial multi-omics,

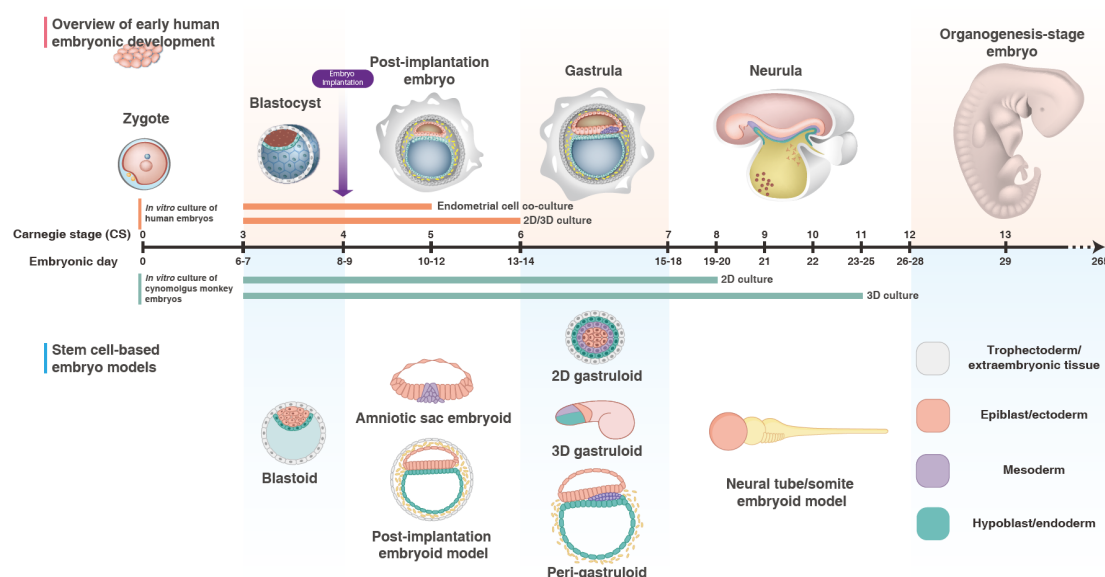
收稿日期: 2026-02-28; 修回日期: 2026-05-01

基金项目: 国家重点研发计划(2022YFA1104300, 2022YFA1103100); 国家自然科学基金重大项目(82192872); 国家自然科学基金创新群体项目(82421003)

#共同第一作者

*通信作者: E-mail: wanghm@ioz.ac.cn

coupled with the evolution of *in vitro* culture (IVC) systems, have driven a paradigm shift in this field—transitioning from static *in vivo* physiological profiling to dynamic *in vitro* reconstruction. This review aims to systematically summarize recent advances in early primate embryogenesis, exploring the integration of *in vivo* developmental principles with *in vitro* modeling strategies to provide a rigorous theoretical framework for establishing high-fidelity developmental and drug-screening models. We first delineate the high-resolution, multi-omic landscapes of natural embryos, illustrating their crucial role in establishing molecular benchmarks for key developmental events, including peri-implantation lineage specification, gastrulation, and early organogenesis. Next, we systematically trace the technological evolution of early embryonic IVC systems. We highlight the critical transition from human peri-implantation models to the prolonged IVC of non-human primate embryos, which effectively bypasses traditional temporal barriers and enables the functional validation of specific molecular pathways. Building upon these foundations, we discuss the advancement of stem cell-based embryo models (SCBEMs) and emphasize the pivotal, navigational role of computational biology. Despite substantial progress in the *in vitro* simulation of early embryogenesis, the establishment of highly reductive models capable of smoothly advancing into early organogenesis is still hindered by two primary bottlenecks: insufficient integration of multi-modal omics and the absence of a physiological maternal-fetal microenvironment. To overcome these limitations, future research must advance synergistically in two dimensions. First, it is imperative to deepen cross-modal omics profiling—incorporating epigenetics, spatial metabolomics, and biomechanics—to provide precise priori parameters for high-order models. Second, leveraging microfluidics and bioengineering technologies to systematically reconstruct the *in vitro* maternal-fetal interface is essential. This includes simulating the three-dimensional mechanotransduction of the extracellular matrix and assembling early vascular networks to facilitate maternal-fetal metabolic exchange. Guided by developmental principles and executed through engineering reconstruction, this mechanistic approach will profoundly advance our understanding of implantation failure, recurrent pregnancy loss, and congenital birth defects. Ultimately, while strictly adhering to bioethical guidelines, these collective efforts will lay a solid empirical foundation for the standardized application of high-throughput human disease and drug-screening models.



Key words: early embryonic development; primate; *in vitro* culture system; stem cell-based embryo models

早期胚胎发育是决定全生命周期健康的关键生物学过程。该过程受到高度严密的时空分子调控,其异常可能导致妊娠失败、出生缺陷等不良妊娠结局,还可能导致成年期发育源性疾病。因此,系统解析早期胚胎发育过程及其调控机制,对揭示生殖生理规律及疾病发生的病理机制具有重要的科学意义与临床价值。

人类着床后胚胎发育完全处于母体子宫的封闭

空间内,受限于研究手段与严格的伦理约束,无法直接对体内胚胎发育进行原位动态追踪。长期以来,胚胎发育研究高度依赖于极其有限的静态组织标本,难以深入解析发育过程的调控机制^[1-3]。近年来,前沿生物技术的巨大进步驱动早期胚胎发育研究范式发生了深刻变革。当前,该领域正逐步确立“体内多组学全景解析”与“体外精确模拟”双线并行的研究范式。一方面,单细胞及空间多组学技术的

突破,使得从稀缺的临床自然胚胎标本中获得“体内生理分子基准(molecular benchmark)”成为可能。另一方面,人类及非人灵长类胚胎体外培养(*in vitro* culture, IVC)系统的优化以及基于干细胞的胚胎模型(stem cell-based embryo models, SCBEMs, 后文称“类胚胎”)的建立,为在体外动态模拟、研究早期胚胎发育过程提供了独特的实验平台。

本文旨在系统综述早期灵长类胚胎发育领域的最新研究进展。首先,阐述基于体内自然胚胎解析的早期发育多组学全景,以加深对胚胎发育规律的理解;其次,归纳IVC系统在模拟胚胎着床至早期器官发生过程中的技术突破及其在机制解析中的应用;最后,探讨整合体内发育规律与体外模拟策略,构建并优化“类胚胎”模型与“数字胚胎”模型,以期解析人类早期发育调控网络、搭建高保真的研究与疾病药筛模型提供前瞻视角。

1 人类早期胚胎发育的基本过程

经典胚胎学基于卡内基分期(Carnegie stages, CS)及形态学特征,对人类胚胎发育进行了严格的时空划分。人类胚胎发育始于受精卵,经历卵裂形成囊胚(CS1~CS3期)。在囊胚形成过程中,细胞首次发生谱系分化,外层细胞形成滋养外胚层(trophoblast, TE),参与未来胎盘的构建;而内部细胞聚集形成内细胞团(inner cell mass, ICM),进一步分化为上胚层(epiblast, EPI)和下胚层(hypoblast),构成胚胎本体及相关支持结构的来源。胚胎期第6至7天(embryonic day, E6~E7, CS4期),囊胚自透明带孵出,启动着床^[4, 5]。在E8~E13(CS5~CS6早期)阶段,着床后胚胎发育出双层胚盘(bilaminar disc)结构:上胚层细胞退出原始多能性(naïve pluripotency)状态并内部空腔化形成原羊膜腔^[6, 7];同时,下胚层细胞向外增殖并沿滋养层内表面迁移形成Heuser膜,围成初级卵黄囊(primary yolk sac)。至E13左右,初级卵黄囊转变为次级卵黄囊(secondary yolk sac)^[8]。在E14~E17(CS6晚期至CS7期)阶段,胚胎进入原肠运动(gastrulation)的关键阶段,表达*Brachyury*的细胞通过上皮-间充质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)经原条内陷,完成中胚层(mesoderm)与内胚层(endoderm)的分化,建立基础体轴^[9, 10]。随后在E18~E28(CS8~CS12期)阶段,原肠胚进一步发生

精细的组织特化,在时空上高度协同地驱动脊索、神经管、体节及原肠管的形态发生^[11, 12]。E28(CS13期)之后,组织特异性祖细胞及器官原基逐步确立,标志着胚胎正式步入器官发生阶段。

2 灵长类早期胚胎发育的时空分子图谱

2.1 着床前胚胎发育与首次谱系分化的分子特征

着床前阶段是灵长类早期胚胎完成细胞命运初始建立的关键时期。受精后,胚胎经历连续卵裂、致密化及囊胚腔形成,逐步由形态相对均一的卵裂球群体过渡为具有明显空间分区和功能分工的囊胚结构。近年来,单细胞转录组研究显著提升了对该阶段分子事件的认识。Yan等^[13]对人类着床前胚胎的单细胞转录组分析首次系统描绘了从合子到囊胚阶段的基因表达动态图谱,为解析早期发育过程中的转录重塑提供了基础框架。在此基础上,Blakeley等^[14]进一步界定了人类囊胚三条基本谱系——滋养外胚层(TE)、上胚层(EPI)和下胚层/原始内胚层(hypoblast/primitive endoderm, HB/PrE)的转录特征,指出人类囊胚在保留哺乳动物早期发育基本规律的同时,也表现出明显的物种特异性分子特征,例如KLF17在上胚层中的特异富集,以及TGF- β 相关通路在维持人类上胚层状态中的潜在作用。随后,Meistermann等^[15]通过整合拟时序分析进一步提高了对人类着床前发育动态过程的分辨率,较为精确地界定了谱系分化发生的时间窗口,并提出NR2F2可作为TE成熟过程的重要标志分子之一。从发育过程看,着床前胚胎依次经历两次关键的谱系分化。第一次谱系分化发生于桑椹胚向囊胚过渡阶段,外层细胞形成TE,参与后续胎盘等胚外组织的建立;内层细胞则形成内细胞团(inner cell mass, ICM),为胚胎本体及部分胚外支持结构提供来源。随后,ICM进一步分化为EPI和HB/PrE,构成第二次谱系分化事件。近年来的研究表明,这一过程并非对小鼠发育程序的简单重复。Regin等^[16]发现,TEAD1和YAP1不仅参与TE命运建立,还可能参与PrE相关分化过程,提示Hippo通路相关因子在灵长类着床前两次谱系分化中均发挥作用。与此同时,Roode等^[17]研究指出,人类胚胎HB形成对FGF信号的依赖性与啮齿类并不完全一致,提示灵长类着床前谱系建立在信号调控层面存在特异性。因此,着床前阶段不仅是灵长类胚胎

完成首次细胞命运分配和胚内-胚外格局初步建立的关键窗口,也为后续围着床期胚胎重塑、谱系进一步特化以及胚胎与母体界面的建立奠定了分子基础^[14,15]。

2.2 围着床期胚胎发育与早期谱系特化的分子特征

围着床期是胚胎与母体子宫建立联系及启动谱系分化的关键窗口。鉴于该阶段人类体内胚胎获取面临伦理与技术双重限制,与人类胚胎发育特性高度保守的非人灵长类胚胎成为解析该过程的最佳模型。Nakamura等^[6]针对食蟹猴围着床期胚胎的研究表明,上胚层在着床期发生显著的转录重塑,并在随后长达一周的原肠胚形成前阶段维持相对的转录组稳态与多能性网络。此外,表达*SOX17/TFAP2C/BLIMP1*的原始生殖细胞(primordial germ cells, PGCs)在原肠胚形成前即产生于新生背侧羊膜(nascent dorsal amnion),该结果确立了羊膜来源的BMP4/WNT3A信号在灵长类生殖系特化中的核心作用^[18,19]。在另一项针对猕猴胚胎发育的研究中,Bergmann等^[20]利用空间转录组学技术解析了前部内脏内胚层(anterior visceral endoderm, AVE)的发生过程,并鉴定了*HHEX/LEFTY2*等保守基因及*POSTN/SDC4*等灵长类特异性基因的表达模式。

2.3 原肠运动与早期器官发生阶段的时空分子全景

原肠运动阶段是确立胚胎体轴与三胚层空间结构的关键时期。近年来,研究者通过对极少量人类胚胎临床标本的单细胞与空间多组学分析,初步勾勒了该阶段的分子景观。Tyser等^[21]率先报道了CS7人类胚胎的单细胞转录组图谱,解析了新生中胚层、内胚层及PGCs等早期谱系特征。结合空间组学与空间位置配准(positional registration)技术,Cui等^[22]构建了首个具有空间坐标的人类CS7期3D原肠胚模型,精确定位了中胚层亚型分布及不依赖于造血干细胞的卵黄囊造血网络。在后续发育阶段,Xiao等^[23]利用Stereo-seq技术重构了CS8期胚胎,揭示了调控胚外界面细胞命运决定的区域特异性WNT-FGF信号网络;而Yuan等^[24]对CS9期胚胎的解析则进一步确认了峡部组织者(isthmic organizer)等关键信号中心及神经中胚层祖细胞(neuromesodermal progenitors, NMPs)的双层组织架构。

由于E14至E28阶段人类胚胎标本的极度稀缺,仅依赖离散的发育标本难以完整重构谱系命运的动态演变规律,食蟹猴等非人灵长类模型的高分

辨率连续图谱发挥了关键作用。Cui等^[25]基于Geo-seq技术构建了食蟹猴原肠胚形成期的空间表达图谱与3D重构模型。本团队通过单细胞转录组学系统解析了CS8~CS11期食蟹猴胚胎三胚层分化的细胞组成与转录调控动态。这种高时间分辨率的非人灵长类胚胎细胞图谱不仅有效填补了体内发育的认知空白,更为区分灵长类保守调控网络与物种特异性机制提供了重要参考^[7]。随后,Xu等^[26]与Zeng等^[27]将人胚胎发育观测窗口延展至CS12~CS16期及受孕后第3~12周,系统描绘了器官特异性祖细胞群(如神经系统祖细胞)的空间组织规律与谱系分化轨迹。

尽管体内组学图谱极大深化了对灵长类早期胚胎发育过程的理解,但以测序为基础的研究手段仍存在很大局限性。早期胚胎中不同谱系或不同发育阶段的细胞类群往往存在转录本特征的重叠,导致单纯依靠单细胞转录组难以精准锚定细胞的真实时空身份。此外,驱动细胞命运决定的底层逻辑不仅依赖于基因表达,更受控于染色质可及性、组蛋白修饰及DNA甲基化等高维表观遗传调控网络。更为关键的是,静态多组学图谱本质上是发育过程的“时间切片”,其推测的基因调控网络及谱系演化轨迹缺乏因果层面的功能验证。因此,系统解析早期胚胎发育机制亟需从静态描绘跨越至对胚胎形态发生的动态追踪。为了在受控的实验条件下动态模拟早期胚胎发育过程,并实现对特定分子通路的功能学干预,建立高效、高保真的胚胎体外培养系统成为灵长类早期胚胎发育研究的必然趋势。

3 早期胚胎体外培养体系的建立与动态发育模拟

3.1 人类胚胎体外培养体系的建立与围着床期事件重构

在体外重现人类胚胎着床及随后的形态发生,是发育生物学领域的长期挑战。1985年,Lindenberg等^[28]通过将人类囊胚与子宫内膜单层细胞共培养,率先将人类胚胎体外培养至相当于受精后第10天的发育阶段,实现了人类胚胎体外着床过程的初步模拟。2016年,Brivanlou与Zernicka-Goetz团队建立了不依赖母体细胞的二维(2D)IVC系统,成功将人类胚胎培养至E13,并精准捕捉了上胚层扩增、谱系分离、双层胚盘形成以及羊膜腔与卵黄囊的腔

系化(cavitation)过程^[29,30]。借助IVC体系,研究者们得以在分子与表观遗传层面深入解析着床期胚胎与子宫内膜共发育过程。Mole等^[31]解析了体外培养人类胚胎前部下胚层的特征,证实了胚胎的对称性打破(symmetry breaking)与体轴特化是独立于母体组织的内源性属性。在表观遗传维度,Zhou等^[32]利用单细胞DNA甲基化测序技术,完整绘制了人类胚胎在着床窗口期的全局去甲基化重编程全景,并为女性胚胎中X染色体随机失活机制提供了关键证据。

然而,2D培养体系易导致胚外的滋养层细胞在培养基质上过度黏附与铺展,从而破坏胚胎正常的3D形态发生。为克服缺乏3D物理支撑的局限,从而更真实地模拟子宫微环境,Xiang等^[33]开发了一种基于超低黏附微孔板,并在特定时间添加基质胶(Matrigel)的3D IVC系统。该系统成功支持了23.4%的人类胚胎发育至接近E14的形态学阶段,高度再现了原肠胚形成前的关键标志性事件,包括原条原基(primitive streak anlage)的形成、前后轴极化以及卵黄囊与羊膜腔3D结构的维持。

3.2 非人灵长类长时程体外培养体系的突破与着床后发育模拟

鉴于人类胚胎体外培养严格受限于受精后14天(或原条出现前)的伦理界限,相关研究必须在原肠胚形成前终止。这一红线直接阻断了对人类胚胎原肠运动及早期器官发生等关键发育事件的动态解析。为突破这一限制,研究人员将培养体系拓展至非人灵长类模型,以期在受控的实验室条件下有效延伸体外发育模拟窗口。

2019年,本团队成功将食蟹猴胚胎体外培养至受精后第20天。结合高分辨率成像与单细胞转录组测序,我们证实体外培养的食蟹猴胚胎在形态学与转录调控程序上,均高度再现了从围着床期至原肠胚形成的体内胚胎发育过程。更为重要的是,该长时程体外培养平台突破了单纯描述性观测的局限,为通过功能干预解析灵长类发育机制提供了可行基础^[34,35]。基于相关非人灵长类胚胎体外培养平台,Yang等^[36]利用CRISPR基因编辑技术敲除*ISL1*,发现其缺失会导致谱系特化严重受损,从功能层面证实了源自羊膜的信号网络在驱动灵长类中胚层形成中的关键作用。2023年,本团队进一步建立了优化的长时程体外培养(prolonged *in vitro*

culture, pIVC)系统,成功将食蟹猴胚胎发育推进至E25。在这一延长的培养窗口内,体外模型精准再现了神经胚形成的关键进程:从E20~E22阶段的神经外胚层特化,直至E25时神经管闭合、祖细胞区域化及早期运动神经元的分化^[37]。与此同时,Gong等^[38]开发的胚胎子宫外培养(extra-uterine embryo culture, EMEUC)系统同样成功实现了非人灵长类胚胎向早期器官发生阶段的跨越。在重现神经管发生与体节发育等胚体形态发生过程的基础上,该研究的另一核心亮点在于其展现了对胚外组织发育的良好支持:该系统能够维持结构完整的卵黄囊,从而为探究初级卵黄囊内的造血微环境(包括造血内皮细胞、红系-髓系祖细胞及早期巨噬细胞)提供了独特的体外平台^[38]。

尽管长时程IVC系统在脱离母体子宫环境中成功重现了早期胚胎的发育过程,但自然胚胎本质上已具备完整预设程序,这在一定程度上限制了研究人员对谱系特化过程进行“自下而上”的解构与工程化干预。此外,自然胚胎资源的极度稀缺以及严格的伦理约束,亦使得这种基于胚胎的发育模拟难以实现高通量及规模化的应用。为突破上述瓶颈,实现对人类胚胎发生更深层次的体外机制解析与高通量疾病建模,研究人员转而利用多能干细胞(pluripotent stem cells, PSCs)的强大自组织特性,致力于构建“类胚胎”模型。

4 “类胚胎”模型的构建与“数字胚胎”的辅助预测

4.1 “类胚胎”模型的构建与应用

由于研究自然人类早期胚胎面临严峻的技术壁垒与伦理限制,体内样本的获取极为困难。为此,研究人员以现有的人类早期胚胎发育时空分子图谱为蓝图,利用干细胞构建了人“类胚胎”模型。此类模型能够高度重现自然胚胎在分子、细胞及形态学层面的特征,从而在体外有效模拟不同发育阶段以及多细胞谱系间的动态互作,为解析早期胚胎发育机制提供了全新的研究平台^[39]。此外,“类胚胎”模型在生物医学与临床转化领域展现出巨大潜力,其不仅可用于揭示先天性发育缺陷的致病机制及开展高通量药物筛选,还在评估与改进辅助生殖技术、推动再生医学发展等方面发挥关键作用^[40]。

4.1.1 构建“类胚胎”模型的干细胞基础

胚胎干细胞(embryonic stem cells, ESCs)是体外模拟发育过程的基础。根据体内对应的发育阶段与多能性水平,目前已经实现分离、培养的人胚胎干细胞(human embryonic stem cells, hESCs)可大致划分为三种状态:原始态(naïve),对应着床前囊胚的ICM或早期上胚层^[41-45];形成态(formative),对应着床期的上胚层^[46-48];始发态(primed),对应着床后的晚期上胚层^[49-51]。原始态hESCs发育阶段较早,可发育为胚内谱系,并保留在特定条件下向胚外滋养层^[52-54]或下胚层^[55]分化的潜力。始发态干细胞的发育潜能已受到限制,基本丧失了自发向胚外滋养层分化的能力^[54]。

胚外组织在提供结构支撑、微环境构建及发育信号诱导中发挥重要作用。已建立的关键胚外干细胞系包括:对应囊胚期滋养外胚层及后续滋养层谱系的滋养层干细胞(human trophoblast stem cells, hTSCs)^[56],对应人类胚胎下胚层谱系的下胚层干细胞(human extra-embryonic endoderm cells, hXENs)^[55]。此外,类8细胞态/全能性干细胞(8-cell-like cells/totipotent-like stem cells, 8CLCs)^[57]和拓展多能干细胞(expanded pluripotent stem cells, EPSCs)^[58,59]也相继建立,具备向胚内和胚外谱系发育的双向潜力。

利用上述处于不同多能性状态的胚胎干细胞、胚外干细胞系和全能干细胞,借助干细胞的自组装(self-organization)与分化能力,可通过单谱系诱导或多谱系共组装方式,构建模拟特定发育时期,包含部分或完整细胞谱系的“类胚胎”模型。

4.1.2 现有“类胚胎”模型的分类

针对不同的胚胎发育阶段,研究人员构建了不同的“类胚胎”模型。

针对着床前的囊胚期,研究人员致力于在体外重构囊胚的细胞组成、空间形态和分子特征,由此开发了类囊胚模型(blastoids)。类囊胚模型的发展最早源于小鼠研究,Rivron等^[60]率先开发了利用多谱系干细胞(如小鼠胚胎干细胞和滋养层干细胞)共组装构建类囊胚的方法;此外,也有实验室开发了基于全能性干细胞^[61,62]或扩展多能干细胞^[63]的单一细胞源类囊胚构建策略。与小鼠不同,目前所有的人类类囊胚模型均依赖于单一类型干细胞在3D条件下的无转基因自发分化与自组织。多个研究团队相

继在起始细胞的选择和模型构建上取得了突破:Yu等^[64]与Yanagida等^[65]率先利用人类原始态胚胎干细胞构建人类类囊胚模型;同时,Liu等^[66]开发了利用重编程的成纤维细胞构建人类类囊胚(iBlastoids)的方法;随后,Kagawa等^[67]进一步优化了基于原始态胚胎干细胞的类囊胚构建方案;此外,Mazid等^[57]利用新近报道的人类类8细胞态多能干细胞作为起始细胞,同样成功实现了人类类囊胚模型的诱导。在发育潜能上,当人类类囊胚模型在3D细胞外基质(extracellular matrix, ECM)上延长培养时,它们能够获得早期着床后发育的部分特征,如上胚层的成腔过程(lumenogenesis)、滋养层细胞谱系的快速扩张,以及原条标志物的局部激活^[68]。

针对着床后及原肠运动早期,研究人员致力于在体外重构羊膜囊和卵黄囊,以及原肠运动期间三胚层的特化与重组。根据“类胚胎”模型构建策略,这类模型主要分为依赖单一干细胞源的诱导型模型和利用多谱系干细胞的多系共组装模型。

在诱导型模型方面,Fu实验室率先利用人类始发态多能干细胞,在3D细胞外基质或微流控设备中构建了着床后羊膜囊胚状体(post-implantation amniotic sac embryoid, PASE)模型^[69,70],成功模拟了具有鳞状羊膜外胚层和柱状上胚层的两极结构。此后,围绕着床期及着床后早期发育事件的体外模拟,相关模型不断拓展。Pedroza等^[71]报道,人类多能干细胞可在特定条件下自组织形成三维结构,稳定地产生上胚层样和下胚层样谱系,并建立关键的局部信号中心,出现类似对称性打破的事件,提示单一干细胞来源体系亦可再现早期着床后发育中的部分关键时空特征。近期,Chen等^[72]进一步通过STAT3激活介导的信号重编程策略,使多能干细胞在较短时间内获得更高的谱系分化能力,并据此构建高保真的着床后胚胎模型,显示信号态重置可进一步提升单源模型的谱系覆盖度与发育保真度。针对原肠运动的模拟,Warmflash等^[73]开发了基于微图案化(micropatterning)技术的2D类原肠胚模型(gastruloids),在体外实现了由外向内依次表达胚外组织、内胚层、中胚层和外胚层标志物的同心圆结构;而Moris等^[74]则构建了3D类原肠胚模型,在体外重现了三胚层的特化与不对称的前后轴延伸。此外,Liu等^[75]利用人类扩展多能性干细胞成功构建了类围原肠胚(peri-gastruloids),该模型不仅再现了

羊膜囊和卵黄囊腔的形成,还捕获了原始生殖细胞的出现及早期神经形成等器官发生特征。

在多系共组装模型方面,Ai等^[76]通过组装人类原始态胚胎干细胞与胚外细胞,构建了可再现围着床期人胚发育里程碑、三维组织构型和谱系组成的类胚胎组装体(embryo-like assembloid, E-assembloid)模型,并揭示WNT、BMP和Nodal信号在上、下胚层及衍生谱系建立中的协同调控作用。为了进一步克服单一细胞系发育潜能的限制,研究人员通过将人类胚胎干细胞与诱导表达特定转录因子(如GATA6、CDX2等)的胚外内胚层样或滋养层样细胞共组装,成功构建了空间组装形态模型(spatially organized morphogenesis, SEMs)^[77]及着床后胚胎状体(post-implantation embryoids)^[78,79]。这些组装模型高度重现了自然发育至第14天(E14)的人类胚胎特征,不仅成功模拟了羊膜囊和卵黄囊腔的形成,还展现了双胚层向三胚层的转化。近期,Oura等^[80]进一步开发了诱导类胚胎模型(inducible stem cell-based embryo models, iSCBEMs),通过将始发态人多能干细胞与来源于原始态多能干细胞的诱导型胚外细胞结合,建立了同时包含胚胎和胚外组织的人类着床后模型,并追踪了羊膜样细胞、卵黄囊内胚层样细胞及胚外中胚层样细胞的来源与发育轨迹,表明整合型着床后模型在重现性、效率和谱系解析能力方面得到进一步提升。

针对早期器官发生,科学家成功构建了多种基于多能干细胞的类胚胎发育模型。在法规和伦理允许的范围内,这些高度生理相关的模型为解析人类早期神经发生与器官发育提供了有效平台。在神经发育方面,研究人员通过模拟信号分子梯度,成功构建了神经胚类器官(neuruloids)^[81]、具备体轴特征的神经管样结构(neural tube-like structure)^[82-85]以及模拟神经细胞特化过程的脊髓类器官(spinal cord organoid)^[86,87]。在体节发生方面,利用悬浮培养或微流控系统,人们开发了体节类胚胎(somitoid、axioloid和segmentoid)模型^[88-91]。为了进一步模拟体内复杂的三维协调发育,研究者还构建了高度集成的神经管-体节共发育模型(neural tube-somite co-developing organoid)。这些模型重现了神经管与体节的平行发育过程^[86,92-94],加深了学界对尾部身体模式(caudal body plan)组织机制的理解,为探究早期骨骼和脊柱发育异常提供了不可或缺的研究工具。

此外,Liu实验室利用干细胞建立了食蟹猴的体外胚胎模型,这不仅延长了对灵长类原肠运动的观察窗口,也为人类早期胚胎发育研究提供了极具价值的非人灵长类参考^[95,96]。

除按发育阶段和构建策略进行分类外,现有“类胚胎”模型还可根据系统整合程度进一步概括为整合型(integrated)和非整合型(non-integrated)两类。非整合型模型通常聚焦于特定发育窗口中的局部结构、单一谱系或某一形态发生事件,如羊膜囊样结构、类原肠胚及部分围着床期模型等,其优势在于体系相对简化、变量边界清晰,因而更适于解析特定信号通路、谱系转变及组织模式化机制。相比之下,整合型模型则更强调胚内与关键胚外成分的协同组织,力图在同一体系内重现多组织间的时空互作及连续发育过程,因此更接近早期胚胎整体发育程序的系统层面模拟。就研究定位而言,前者更偏向“将复杂发育过程拆解为可实验操控的局部单元”,后者则更偏向“在体外重建跨组织协同的整体框架”。因此,这一区分有助于从模型复杂程度和科学问题类型两个层面理解现有“类胚胎”体系。

4.1.3 “类胚胎”模型的应用

长期以来,发育生物学和生物医学研究主要依赖于传统二维细胞培养和动物模型,但这往往受限于物种特异性差异以及缺乏真实3D结构等问题。相比之下,人类干细胞胚胎模型有效克服了这些限制,不仅在体外高度重现了人类胚胎发育的3D空间结构和多细胞谱系多样性,还具备高度可控性与可扩展性,能够兼容基因编辑等生物技术,为人类早期发育研究提供了更具生理相关性的理想平台。

在发育生物学研究层面,结合3D细胞外基质和生物工程技术,“类胚胎”模型为解析早期人类胚胎发育的动态过程与分子机制提供了精确的体外平台。例如,Simunovic等^[97]利用3D上胚层模型证实了BMP4信号驱动的胚胎对称性打破;而Miao等^[90]与Yaman等^[92]的体节模型则清晰地展示了NOTCH和FGF等信号梯度在调控体节分节时钟(segmentation clock)振荡中的核心机制。这些模型的建立极大地推动了对原肠运动及组织发生等复杂发育生物学事件的探究。此外,“类胚胎”模型的应用已进一步拓展至特殊发育状态研究。Iyer等^[98]发现,通过抑制mTOR信号活性,可诱导人类多能干细胞及类囊胚进入一种可逆的休眠样状态,表现为增

殖减缓、发育进程放慢以及与子宫内膜细胞的黏附能力下降,从而为体外研究人类胚胎发育节律调控及胚胎滞育样机制提供了新的实验体系。另外,“类胚胎”模型还可用于胚外组织发育研究。Gharibi等^[99]建立的原肠运动后羊膜类器官(post-gastrulation amnioids, PGAs)能够较好模拟受精后2~4周的人羊膜及相关胚外组织发育过程,自组织形成羊膜、卵黄囊及胚外中胚层结构,并揭示了GATA3在羊膜发生过程中的关键作用,表明“类胚胎”模型已从早期胚体模式建立逐步拓展至胚外支持组织的发育与功能研究。

在临床转化应用层面,“类胚胎”模型展现出了作为疾病建模、高通量药物筛选平台的巨大潜力。疾病建模方面,相关模型可用于模拟特定发育异常的早期发生过程,从而为先天性疾病机制解析和候选干预策略评估提供平台。例如,Harembaki等^[81]利用干细胞诱导构建的神经胚模型,成功在体外模拟并揭示了亨廷顿舞蹈症在外胚层区域引发的早期发育异常。在高通量药物筛选方面,“类胚胎”模型也为评估与改进现有辅助生殖技术(assisted reproductive technology, ART)提供了极具潜力的测试平台。胚胎着床失败长期以来是限制辅助生殖技术临床成功率的核心瓶颈,而“类胚胎”模型与子宫内膜3D培养技术的结合,为重构“母胎界面”及解析着床障碍提供了突破性的手段。Song等^[100]和Molè等^[101]成功开发了囊胚或类囊胚与容受性子宫内膜的3D共培养系统,在体外高度重现了胚胎黏附、侵入及早期母胎信号互作的动态过程。近期,本团队利用人类类囊胚模型与工程化子宫内膜构建了3D着床微流控芯片,创新性地利用反复着床失败(recurrent implantation failure, RIF)患者的细胞建立了体外病理模型^[102]。以此为平台,研究人员不仅成功复现了着床障碍,还通过高通量筛选,鉴定出数种能显著改善RIF患者子宫内膜着床率的潜在药物。

4.1.4 目前“类胚胎”模型的局限性

尽管发展迅速,“类胚胎”模型目前仍面临客观局限^[39,40]。首先,模型在细胞组成与空间结构上与自然胚胎存在差异,易产生脱靶细胞,且部分特定谱系的诱导效率偏低。其次,模型整体构建效率仍非常低,目前尚未建立标准化的培养方案与质量评估体系。最后,现有的体外条件无法完全模拟复杂的子宫微环境,导致模型常在特定发育阶段发生停滞,

难以支持长期的体外发育与复杂器官发生。

4.2 “数字胚胎”的辅助预测

尽管单细胞与空间转录组学确立了早期发育的体内参考基准^[103],但静态图谱难以全面解析生化信号、生物力学与细胞命运决定间的动态互作。为弥补时空信息的缺失,基于计算生物学构建的“数字胚胎”成为破局的关键途径。通过整合高维度多组学数据与活体动力学参数,并引入预测命运演化的AI算法(如CellOracle)^[104]、推演细胞力学的生物物理模型(如Foambryo)^[105]及模拟调控逻辑的数学框架(如布尔网络)^[106],“数字胚胎”能够在虚拟层面实现发育轨迹的高保真动态推演。

近年来,相关计算模型已开始发育调控网络预测和形态发生轨迹重建中展现出具体应用价值。以CellOracle为例,该方法可基于单细胞转录组数据重建基因调控网络,并通过*in silico* gene perturbation预测关键转录因子扰动后的细胞命运变化。Kamimoto等^[104]将其应用于发育体系后,不仅较准确地预测了转录因子扰动引起的表型变化,还进一步鉴定了轴旁中胚层调控因子LHX1A,说明该类方法可作为筛选关键调控节点和指导后续功能验证的重要工具。另一方面,Foambryo可根据胚胎细胞荧光成像数据重建细胞几何结构,并进一步反演三维相对表面张力与压力分布,生成胚胎发育过程中的三维力学图谱。Ichbiah等^[105]已在小鼠、海鞘和线虫胚胎中验证了该方法的有效性,表明数字模型不仅可用于推断基因调控关系,也可用于揭示驱动组织形态发生的力学基础。因此,“数字胚胎”正在由对静态多组学图谱的整合分析,逐步发展为同时连接调控网络预测、命运轨迹推演与形态发生机制解析的综合性研究框架。

利用“数字胚胎”对基因调控网络与形态发生轨迹进行高通量计算推演,随后依托具备高度可控性与可扩展性的“类胚胎”模型进行功能学实验验证,不仅有助于深刻揭示早期生命发育的底层规律,更将为解析着床失败与出生缺陷的病理机制,以及开发基于病理机制驱动的药物筛选平台提供全新的工具与研究范式。但与此同时,“数字胚胎”目前仍存在一定局限性。首先,其预测能力高度依赖高质量、多模态、跨时间点数据的完整性,而现阶段人类早期胚胎相关数据仍较为稀缺,且不同研究在样本来源、测序平台及注释标准上存在差异,这在一定程度上

限制了模型训练与跨数据集整合的稳定性^[103]。其次,现有多数模型对于基因调控网络和发育轨迹的推断,本质上仍主要建立在统计相关性与计算模拟基础之上,尚不能替代严格的功能学验证,因此其结论仍需依托天然胚胎、体外培养体系或“类胚胎”模型加以验证^[104,105]。此外,当前数字模型对于母胎界面、代谢微环境及跨尺度力学-表观遗传耦合过程的模拟仍较为有限,尚难完整覆盖真实胚胎发育过程中复杂的生理约束条件。因此,未来“数字胚胎”的发展仍需与体内多组学图谱、长时程体外培养体系及高保真“类胚胎”模型协同推进,不断提升其预测精度与生物学解释能力。

5 早期胚胎及“类胚胎”研究的伦理规范与监管

随着胚胎体外培养时限的延长及“类胚胎”模型与自然胚胎相似性的提升,早期胚胎发育研究正面临前所未有的伦理挑战。建立兼顾科学创新与生命尊严的动态治理框架,是保障该领域持续且负责任发展的重要前提。

长期以来,人类自然胚胎的体外研究严格受限于“14天规则”,即胚胎的体外培养必须在受精后14天或原条出现前终止^[107]。该规则作为全球公认的伦理红线,有效规范了早期的胚胎学研究。然而,随着人类及非人灵长类IVC体系的不断突破,在受控条件下解析原肠运动及早期器官发生的科学诉求日益凸显^[108,109]。基于此,国际干细胞研究学会(ISSCR)在2021年更新的《干细胞研究与临床转化指南》中,对传统的“14天规则”做出了重大调整:取消了对培养超过14天人类胚胎的绝对禁令,并建议在具备极高的科学合理性且通过严谨、独立的伦理审查前提下,审慎评估延长培养窗口的可行性^[110,111]。这一政策演进不仅反映了技术进步对传统规则的驱动,也强调了逐案审查在突破现有研究边界时的必要性,然而到目前为止,还未有人类胚胎培养超过14天的报道。

与此同时,针对“类胚胎”模型技术的快速突破,ISSCR对相关伦理准则也进行了全面更新^[112]。最新规定强调,所有旨在模拟人类胚胎发育过程且具备3D空间组织结构的“类胚胎”模型,均必须接受与其复杂程度相匹配的正式科学与伦理审查。此外,研究必须设定基于特定发育里程碑的严格培养时间限制,绝不允许进行无期限的体外培养。在研究底

线方面,新指南划定了严格的红线:严禁将任何人类“类胚胎”模型移植到人类或活体动物宿主的子宫内进行体内发育,同时也明确禁止利用人造系统将模型培养至具备独立存活能力的阶段。这些规范旨在确保领域创新在严守伦理底线和维系公众信任的前提下稳步推进。

从我国现有监管框架看,围绕早期胚胎发育与人源发育模型研究,已逐步形成由顶层原则、一般伦理审查制度和前沿领域专项指引共同构成的治理体系。2022年,中共中央办公厅、国务院办公厅印发《关于加强科技伦理治理的意见》,明确提出“伦理先行”,要求将科技伦理要求贯穿科学研究、技术开发等科技活动全过程,并压实高等学校、科研机构、医疗卫生机构和企业等创新主体的科技伦理管理责任^[113]。2023年施行的《涉及人的生命科学和医学研究伦理审查办法》进一步将“对人的生殖、生长、发育等进行研究的活动”纳入伦理审查范围,为早期胚胎发育相关研究提供了直接的制度依据^[114]。同年发布的《科技伦理审查办法(试行)》则建立了覆盖各领域科技活动的统一审查框架,并将“改变人类生殖细胞、受精卵和着床前胚胎细胞核遗传物质或遗传规律的基础研究”以及“将人干细胞导入动物胚胎或胎儿并进一步在动物子宫中孕育成个体的相关研究”纳入需要开展伦理审查复核的科技活动清单,体现出我国对胚胎、干细胞及相关高风险前沿研究实行更严格监管的鲜明导向^[115,116]。此外,科技部于2025年发布《人源类器官研究伦理指引》,也表明我国正在持续推进对人源复杂生物模型的专项伦理治理^[117]。

在此基础上,针对灵长类早期胚胎发育及“类胚胎”模型研究,研究者除遵循国际共识外,也应主动落实我国伦理治理要求。具体而言,应在研究设计阶段充分论证科学必要性与不可替代性,严格界定研究边界和培养终点;在材料来源、知情同意、隐私保护和数据使用等方面依法依规开展工作;对于可能涉及胚胎遗传操作、跨物种嵌合或其他高风险情形的研究,应主动接受更严格的伦理审查与动态监管^[113-116]。同时,研究团队还应加强研究过程中的信息记录、风险评估、结果披露与公众沟通,避免技术应用被误读、误用或超范围延伸,以推动该领域在规范、有序和可持续的轨道上发展。

面向未来,无论是深化人类早期发育的体外模

拟,还是依托“类胚胎”模型构建高保真的出生缺陷与药物筛选模型,相关研究均需在严格遵循国际共识与本国法规的框架下审慎推进,以确保发育与疾病模型的临床转化在增进人类生殖健康福祉的同时,坚守生命伦理的底线。

6 总结与展望

早期灵长类胚胎发育研究正经历从“体内生理图谱解析”向“体外动态模型重构”的范式跨越,其核心愿景在于建立高保真度的发育与疾病研究模型。单细胞与空间多组学技术确立了生理状态下的分子基准;而IVC系统及“类胚胎”模型的迭代,则为在受控实验室条件下解构谱系特化与形态发生机制,进而构建疾病及药物筛选模型搭建了关键平台。

尽管该领域已取得一定进展,但现阶段建立高还原度的体外疾病模型仍面临两项主要技术瓶颈。其一,自然胚胎解析维度的局限性。现有体内多组学数据多集中于转录组水平,尚缺乏表观遗传、代谢及空间力学等维度的系统整合,这限制了对早期发育复杂调控网络的全面解析,进而影响体外模型构建参数的准确性。其二,体外模型中母胎界面微环境的缺失。尽管目前的长时程培养体系已初步实现了对早期器官发生阶段的模拟,但由于缺乏母体物理与生化支持系统的深度介入(如早期胎盘界面的建立与母体血管网络的引入),发育中的胚胎或“类胚胎”单纯依靠自由扩散已无法满足日益增长的代谢需求,难以支撑胚胎完成更高级的组织3D组装与持续成熟。针对上述局限,未来胚胎发育研究需在自然胚胎解析与体外模型优化两个维度协同推进。

一方面,需深化自然胚胎的时空多维解析。为突破单一转录组图谱的局限,未来研究需向表观遗传、代谢组学及生物力学等多维度深度拓展。在此基础上,借助计算生物学模型进行跨模态数据的系统融合与网络推演,全面解析驱动细胞命运决定的底层逻辑,从而为“类胚胎”模型的优化及特定发育异常模型的设计提供更为精确的先验参数。另一方面,需系统重构母胎界面的体外微环境以完善发育模拟体系。为支持胚胎(或“类胚胎”模型)进一步发育并建立复杂的病理模型,后续体外模拟研究需结合微流控等生物工程技术,逐步引入功能性血管网络及母体驻留免疫细胞群(如子宫自然杀伤细胞、巨

噬细胞),以弥补营养递送与免疫耐受等关键生理环节的缺失。

综上所述,系统解析自然胚胎的发育规律是指导体外模拟的理论基础,而体外模拟体系的持续优化则是验证早期发育机制的重要途径。这种以发育规律为导向、以体外模拟为手段的研究范式,不仅有助于理解胚胎自身发育及其调控机制,更为阐明着床失败、复发性流产及出生缺陷的底层病理机制,以及搭建标准化的药物筛选平台,奠定了坚实的方法学基础。

参考文献

- [1] Keibel F, Mall FP. Manual of human embryology[M]. Philadelphia: The Washington Square Press, 1910.
- [2] O'Rahilly R, Müller F. Developmental stages in human embryos: revised and new measurements. Cells Tissues Organs, 2010, 192: 73–84.
- [3] Carnegie Institution of Washington. Contributions to embryology[M]. Washington, DC: Carnegie Institution of Washington, 1915.
- [4] Niakan KK, Han J, Pedersen RA, et al. Human pre-implantation embryo development. Development, 2012, 139: 829–41.
- [5] Hertig AT, Rock J, Adams EC. A description of 34 human ova within the first 17 days of development. Am J Anat, 1956, 98: 435–93.
- [6] Nakamura T, Okamoto I, Sasaki K, et al. A developmental coordinate of pluripotency among mice, monkeys and humans. Nature, 2016, 537: 57–62.
- [7] Zhai J, Guo J, Wan H, et al. Primate gastrulation and early organogenesis at single-cell resolution. Nature, 2022, 612: 732–8.
- [8] Ross C, Boroviak TE. Origin and function of the yolk sac in primate embryogenesis. Nat Commun, 2020, 11: 3760.
- [9] Zhai J, Xiao Z, Wang Y, et al. Human embryonic development: from peri-implantation to gastrulation. Trends Cell Biol, 2022, 32: 18–29.
- [10] Müller F, O'Rahilly R. Segmentation in staged human embryos: the occipitocervical region revisited. J Anat, 2003, 203: 297–315.
- [11] Santos C, Marshall AR, Murray A, et al. Spinal neural tube formation and tail development in human embryos. Elife, 2024, 12: RP88584.
- [12] Müller F, O'Rahilly R. The development of the human brain from a closed neural tube at stage 13. Anat Embryol (Berl), 1988, 177: 203–24.

- [13] Yan L, Yang M, Guo H, et al. Single-cell RNA-seq profiling of human preimplantation embryos and embryonic stem cells. *Nat Struct Mol Biol*, 2013, 20: 1131–9.
- [14] Blakeley P, Fogarty NME, del Valle I, et al. Defining the three cell lineages of the human blastocyst by single-cell RNA-seq. *Development*, 2015, 142: 3151–65.
- [15] Meistermann D, Bruneau A, Loubersac S, et al. Integrated pseudotime analysis of human pre-implantation embryo single-cell transcriptomes reveals the dynamics of lineage specification. *Cell Stem Cell*, 2021, 28: 1625–40.e6.
- [16] Regin M, Essahib W, Demtschenko A, et al. Lineage segregation in human pre-implantation embryos is specified by YAP1 and TEAD1. *Hum Reprod*, 2023, 38: 1484–98.
- [17] Roode M, Blair K, Snell P, et al. Human hypoblast formation is not dependent on FGF signalling. *Dev Biol*, 2012, 361: 358–63.
- [18] Sasaki K, Nakamura T, Okamoto I, et al. The germ cell fate of cynomolgus monkeys is specified in the nascent amnion. *Dev Cell*, 2016, 39: 169–85.
- [19] Nakamura T, Yabuta Y, Okamoto I, et al. Single-cell transcriptome of early embryos and cultured embryonic stem cells of cynomolgus monkeys. *Sci Data*, 2017, 4: 170067.
- [20] Bergmann S, Penfold CA, Slatery E, et al. Spatial profiling of early primate gastrulation in utero. *Nature*, 2022, 609: 136–43.
- [21] Tyser RCV, Mahammadov E, Nakanoh S, et al. Single-cell transcriptomic characterization of a gastrulating human embryo. *Nature*, 2021, 600: 285–9.
- [22] Cui L, Lin S, Yang X, et al. Spatial transcriptomic characterization of a Carnegie stage 7 human embryo. *Nat Cell Biol*, 2025, 27: 360–9.
- [23] Xiao Z, Cui L, Yuan Y, et al. 3D reconstruction of a gastrulating human embryo. *Cell*, 2024, 187: 2855–74.e19.
- [24] Yuan Y, Wang X, Yan X, et al. 3D reconstruction of a human Carnegie stage 9 embryo provides a snapshot of early body plan formation. *Cell Stem Cell*, 2025, 32: 1006–24.e5.
- [25] Cui G, Feng S, Yan Y, et al. Spatial molecular anatomy of germ layers in the gastrulating cynomolgus monkey embryo. *Cell Rep*, 2022, 40: 111285.
- [26] Xu Y, Zhang T, Zhou Q, et al. A single-cell transcriptome atlas profiles early organogenesis in human embryos. *Nat Cell Biol*, 2023, 25: 604–15.
- [27] Zeng B, Liu Z, Lu Y, et al. The single-cell and spatial transcriptional landscape of human gastrulation and early brain development. *Cell Stem Cell*, 2023, 30: 851–66.e7.
- [28] Lindenberg S, Nielsen MH, Lenz S. In vitro studies of human blastocyst implantation. *Ann N Y Acad Sci*, 1985, 442: 368–74.
- [29] Shahbazi MN, Jedrusik A, Vuoristo S, et al. Self-organization of the human embryo in the absence of maternal tissues. *Nat Cell Biol*, 2016, 18: 700–8.
- [30] Deglincerti A, Croft GF, Pietila LN, et al. Self-organization of the in vitro attached human embryo. *Nature*, 2016, 533: 251–4.
- [31] Molè MA, Coorens THH, Shahbazi MN, et al. A single cell characterisation of human embryogenesis identifies pluripotency transitions and putative anterior hypoblast centre. *Nat Commun*, 2021, 12: 3679.
- [32] Zhou F, Wang R, Yuan P, et al. Reconstituting the transcriptome and DNA methylome landscapes of human implantation. *Nature*, 2019, 572: 660–4.
- [33] Xiang L, Yin Y, Zheng Y, et al. A developmental landscape of 3D-cultured human pre-gastrulation embryos. *Nature*, 2020, 577: 537–42.
- [34] Niu Y, Sun N, Li C, et al. Dissecting primate early post-implantation development using long-term in vitro embryo culture. *Science*, 2019, 366: eaaw5754.
- [35] Ma H, Zhai J, Wan H, et al. In vitro culture of cynomolgus monkey embryos beyond early gastrulation. *Science*, 2019, 366: eaax7890.
- [36] Yang R, Goedel A, Kang Y, et al. Amnion signals are essential for mesoderm formation in primates. *Nat Commun*, 2021, 12: 5126.
- [37] Zhai J, Xu Y, Wan H, et al. Neurulation of the cynomolgus monkey embryo achieved from 3D blastocyst culture. *Cell*, 2023, 186: 2078–91.e18.
- [38] Gong Y, Bai B, Sun N, et al. Ex utero monkey embryogenesis from blastocyst to early organogenesis. *Cell*, 2023, 186: 2092–110.e23.
- [39] Ren H, Jia X, Yu L. The building blocks of embryo models: embryonic and extraembryonic stem cells. *Cell Discov*, 2025, 11: 40.
- [40] Wu H, Wang H. Progress in stem cell-based embryo models and their applications in developmental biology and biomedicine. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2026, 27: 178–93.
- [41] Bredenkamp N, Yang J, Clarke J, et al. Wnt inhibition facilitates RNA-mediated reprogramming of human somatic cells to naive pluripotency. *Stem Cell Rep*, 2019, 13: 1083–98.
- [42] Guo G, von Meyenn F, Santos F, et al. Naive

- pluripotent stem cells derived directly from isolated cells of the human inner cell mass. *Stem Cell Rep*, 2016, 6: 437–46.
- [43] Takashima Y, Guo G, Loos R, et al. Resetting transcription factor control circuitry toward ground-state pluripotency in human. *Cell*, 2014, 158: 1254–69.
- [44] Gafni O, Weinberger L, Mansour AA, et al. Derivation of novel human ground state naive pluripotent stem cells. *Nature*, 2013, 504: 282–6.
- [45] Theunissen TW, Powell BE, Wang H, et al. Systematic identification of culture conditions for induction and maintenance of naive human pluripotency. *Cell Stem Cell*, 2014, 15: 471–87.
- [46] Kinoshita M, Barber M, Mansfield W, et al. Capture of mouse and human stem cells with features of formative pluripotency. *Cell Stem Cell*, 2021, 28: 453–71.e8.
- [47] Smith A. Formative pluripotency: the executive phase in a developmental continuum. *Development*, 2017, 144: 365–73.
- [48] Yu L, Wei Y, Sun HX, et al. Derivation of intermediate pluripotent stem cells amenable to primordial germ cell specification. *Cell Stem Cell*, 2021, 28: 550–67.e12.
- [49] Chen G, Gulbranson DR, Hou Z, et al. Chemically defined conditions for human iPSC derivation and culture. *Nat Methods*, 2011, 8: 424–9.
- [50] Thomson JA, Itskovitz-Eldor J, Shapiro SS, et al. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *Science*, 1998, 282: 1145–7.
- [51] Ludwig TE, Levenstein ME, Jones JM, et al. Derivation of human embryonic stem cells in defined conditions. *Nat Biotechnol*, 2006, 24: 185–7.
- [52] Io S, Kabata M, Iemura Y, et al. Capturing human trophoblast development with naive pluripotent stem cells in vitro. *Cell Stem Cell*, 2021, 28: 1023–39.e13.
- [53] Dong C, Belcheva M, Gontarz P, et al. Derivation of trophoblast stem cells from naïve human pluripotent stem cells. *eLife*, 2020, 9: e52504.
- [54] Guo G, Stirparo GG, Strawbridge SE, et al. Human naïve epiblast cells possess unrestricted lineage potential. *Cell Stem Cell*, 2021, 28: 1040–56.e6.
- [55] Linneberg-Agerholm M, Wong YF, Romero Herrera JA, et al. Naïve human pluripotent stem cells respond to Wnt, Nodal and Lif signalling to produce expandable naïve extra-embryonic endoderm. *Development*, 2019, 146: dev180620.
- [56] Okae H, Toh H, Sato T, et al. Derivation of human trophoblast stem cells. *Cell Stem Cell*, 2018, 22: 50–63.e6.
- [57] Mazid MA, Ward C, Luo Z, et al. Rolling back human pluripotent stem cells to an eight-cell embryo-like stage. *Nature*, 2022, 605: 315–24.
- [58] Yang Y, Liu B, Xu J, et al. Derivation of pluripotent stem cells with in vivo embryonic and extraembryonic potency. *Cell*, 2017, 169: 243–57.e25.
- [59] Gao X, Nowak-Imialek M, Chen X, et al. Establishment of porcine and human expanded potential stem cells. *Nat Cell Biol*, 2019, 21: 687–99.
- [60] Rivron NC, Frias-Aldeguer J, Vrij EJ, et al. Blastocyst-like structures generated solely from stem cells. *Nature*, 2018, 557: 106–11.
- [61] Kime C, Kiyonari H, Ohtsuka S, et al. Induced 2C expression and implantation-competent blastocyst-like cysts from primed pluripotent stem cells. *Stem Cell Rep*, 2019, 13: 485–98.
- [62] Yang M, Yu H, Yu X, et al. Chemical-induced chromatin remodeling reprograms mouse ESCs to totipotent-like stem cells. *Cell Stem Cell*, 2022, 29: 400–18.e13.
- [63] Li R, Zhong C, Yu Y, et al. Generation of blastocyst-like structures from mouse embryonic and adult cell cultures. *Cell*, 2019, 179: 687–702.e18.
- [64] Yu L, Wei Y, Duan J, et al. Blastocyst-like structures generated from human pluripotent stem cells. *Nature*, 2021, 591: 620–6.
- [65] Yanagida A, Spindlow D, Nichols J, et al. Naive stem cell blastocyst model captures human embryo lineage segregation. *Cell Stem Cell*, 2021, 28: 1016–22.e4.
- [66] Liu X, Tan JP, Schröder J, et al. Modelling human blastocysts by reprogramming fibroblasts into iBlastoids. *Nature*, 2021, 591: 627–32.
- [67] Kagawa H, Javali A, Khoei HH, et al. Human blastoids model blastocyst development and implantation. *Nature*, 2022, 601: 600–5.
- [68] Karvas RM, Zemke JE, Ali SS, et al. 3D-cultured blastoids model human embryogenesis from pre-implantation to early gastrulation stages. *Cell Stem Cell*, 2023, 30: 1148–65.e7.
- [69] Zheng Y, Xue X, Shao Y, et al. Controlled modelling of human epiblast and amnion development using stem cells. *Nature*, 2019, 573: 421–5.
- [70] Shao Y, Taniguchi K, Townshend RF, et al. A pluripotent stem cell-based model for post-implantation human amniotic sac development. *Nat Commun*, 2017, 8: 208.
- [71] Pedroza M, Gassaloglu SI, Dias N, et al. Self-patterning of human stem cells into post-implantation lineages. *Nature*, 2023, 622: 574–83.
- [72] Chen C, Wu J, Wang X, et al. Signaling reprogramming

- via Stat3 activation unravels high-fidelity human post-implantation embryo modeling. *Cell Stem Cell*, 2025, 32: 1528–44.e10.
- [73] Warmflash A, Sorre B, Etoc F, et al. A method to recapitulate early embryonic spatial patterning in human embryonic stem cells. *Nat Methods*, 2014, 11: 847–54.
- [74] Moris N, Anlas K, Van Den Brink SC, et al. An in vitro model of early anteroposterior organization during human development. *Nature*, 2020, 582: 410–5.
- [75] Liu L, Oura S, Markham Z, et al. Modeling post-implantation stages of human development into early organogenesis with stem-cell-derived peri-gastruloids. *Cell*, 2023, 186: 3776–92.e16.
- [76] Ai Z, Niu B, Yin Y, et al. Dissecting peri-implantation development using cultured human embryos and embryo-like assembloids. *Cell Res*, 2023, 33: 661–78.
- [77] Oldak B, Wildschutz E, Bondarenko V, et al. Complete human day 14 post-implantation embryo models from naive ES cells. *Nature*, 2023, 622: 562–73.
- [78] Weatherbee BAT, Gantner CW, Iwamoto-Stohl LK, et al. Pluripotent stem cell-derived model of the post-implantation human embryo. *Nature*, 2023, 622: 584–93.
- [79] Gantner CW, Weatherbee BAT, Wang Y, et al. Assembly of a stem cell-derived human postimplantation embryo model. *Nat Protoc*, 2025, 20: 67–91.
- [80] Oura S, Li L, Wu J. An inducible model of human post-implantation development derived from primed and naive stem cells. *Cell Stem Cell*, 2025, 32: 1509–27.e9.
- [81] Haremake T, Metzger JJ, Rito T, et al. Self-organizing neuruloids model developmental aspects of Huntington's disease in the ectodermal compartment. *Nat Biotechnol*, 2019, 37: 1198–208.
- [82] Rifès P, Isaksson M, Rathore GS, et al. Modeling neural tube development by differentiation of human embryonic stem cells in a microfluidic Wnt gradient. *Nat Biotechnol*, 2020, 38: 1265–73.
- [83] Karzbrun E, Khankhel AH, Megale HC, et al. Human neural tube morphogenesis in vitro by geometric constraints. *Nature*, 2021, 599: 268–72.
- [84] Zheng Y, Xue X, Resto-Irizarry AM, et al. Dorsal-ventral patterned neural cyst from human pluripotent stem cells in a neurogenic niche. *Sci Adv*, 2019, 5: eaax5933.
- [85] Xue X, Kim YS, Ponce-Arias AI, et al. A patterned human neural tube model using microfluidic gradients. *Nature*, 2024, 628: 391–9.
- [86] Hamazaki N, Yang W, Kubo CA, et al. Retinoic acid induces human gastruloids with posterior embryo-like structures. *Nat Cell Biol*, 2024, 26: 1790–803.
- [87] Lee JH, Shin H, Shaker MR, et al. Production of human spinal-cord organoids recapitulating neural-tube morphogenesis. *Nat Biomed Eng*, 2022, 6: 435–48.
- [88] Sanaki-Matsumiya M, Matsuda M, Gritti N, et al. Periodic formation of epithelial somites from human pluripotent stem cells. *Nat Commun*, 2022, 13: 2325.
- [89] Yamanaka Y, Hamidi S, Yoshioka-Kobayashi K, et al. Reconstituting human somitogenesis in vitro. *Nature*, 2023, 614: 509–20.
- [90] Miao Y, Djeflal Y, De Simone A, et al. Reconstruction and deconstruction of human somitogenesis in vitro. *Nature*, 2023, 614: 500–8.
- [91] Liu Y, Kim YS, Xue X, et al. A human pluripotent stem cell-based somitogenesis model using microfluidics. *Cell Stem Cell*, 2024, 31: 1113–26.e6.
- [92] Yaman YI, Ramanathan S. Controlling human organoid symmetry breaking reveals signaling gradients drive segmentation clock waves. *Cell*, 2023, 186: 513–27.e19.
- [93] Gribaudo S, Robert R, van Sambeek B, et al. Self-organizing models of human trunk organogenesis recapitulate spinal cord and spine co-morphogenesis. *Nat Biotechnol*, 2024, 42: 1243–53.
- [94] Faustino Martins JM, Fischer C, Urzi A, et al. Self-organizing 3D human trunk neuromuscular organoids. *Cell Stem Cell*, 2020, 26: 172–86.e6.
- [95] Li J, Cao J, Shang S, et al. Modelling late gastrulation in stem cell-derived monkey embryo models. *Nature*, 2026, 649: 161–72.
- [96] Li J, Zhu Q, Cao J, et al. Cynomolgus monkey embryo model captures gastrulation and early pregnancy. *Cell Stem Cell*, 2023, 30: 362–77.e7.
- [97] Simunovic M, Metzger JJ, Etoc F, et al. A 3D model of a human epiblast reveals BMP4-driven symmetry breaking. *Nat Cell Biol*, 2019, 21: 900–10.
- [98] Iyer DP, Khoei HH, Weijden VA van der, et al. mTOR activity paces human blastocyst stage developmental progression. *Cell*, 2024, 187: 6566–83.e22.
- [99] Gharibi B, Inge OCK, Rodriguez-Hernandez I, et al. Post-gastrulation amnioids as a stem cell-derived model of human extra-embryonic development. *Cell*, 2025, 188: 3757–74.e20.
- [100] Song J, Zhao R, Zhang Y, et al. 3D post-implantation co-culture of human embryo and endometrium. *Cell Stem Cell*, 2026, 33: 58–72.e7.
- [101] Molè MA, Elderkin S, Zorzan I, et al. Modeling human embryo implantation in vitro. *Cell*, 2026, 189: 87–105.e28.

- [102] Li Q, Yuan Y, Zhao W, et al. A 3D in vitro model for studying human implantation and implantation failure. *Cell*, 2026, 189: 70–86.e20.
- [103] Zhao C, Plaza Reyes A, Schell JP, et al. A comprehensive human embryo reference tool using single-cell rna-sequencing data. *Nat Methods*, 2025, 22: 193–206.
- [104] Kamimoto K, Stringa B, Hoffmann CM, et al. Dissecting cell identity via network inference and in silico gene perturbation. *Nature*, 2023, 614: 742–51.
- [105] Ichbiah S, Delbary F, McDougall A, et al. Embryo mechanics cartography: inference of 3D force atlases from fluorescence microscopy. *Nat Methods*, 2023, 20: 1989–99.
- [106] Cheng X, Sun M, Socolar JES. Autonomous boolean modelling of developmental gene regulatory networks. *J R Soc Interface*, 2013, 10: 20120574.
- [107] Report of inquiry into human fertilisation and embryology: Medical Research Council's response. *Lancet*, 1985, 1: 270.
- [108] Williams K, Johnson MH. Adapting the 14-day rule for embryo research to encompass evolving technologies. *Reprod Biomed Soc Online*, 2020, 10: 1–9.
- [109] Appleby JB, Bredenoord AL. Should the 14-day rule for embryo research become the 28-day rule? *EMBO Mol Med*, 2018, 10: e9437.
- [110] Lovell-Badge R, Anthony E, Barker RA, et al. ISSCR guidelines for stem cell research and clinical translation: the 2021 update. *Stem Cell Rep*, 2021, 16: 1398–408.
- [111] Clark AT, Brivanlou A, Fu J, et al. Human embryo research, stem cell-derived embryo models and in vitro gametogenesis: considerations leading to the revised ISSCR guidelines. *Stem Cell Rep*, 2021, 16: 1416–24.
- [112] Clark AT, Cook-Andersen H, Franklin S, et al. Stem cell-based embryo models: the 2021 ISSCR stem cell guidelines revisited. *Stem Cell Rep*, 2025, 20: 102514.
- [113] 中共中央办公厅, 国务院办公厅. 关于加强科技伦理治理的意见[EB/OL]. (2022-03-20)[2026-02-28]. https://www.gov.cn/gongbao/content/2022/content_5683838.htm.
- [114] 国家卫生健康委员会, 教育部, 科学技术部, 等. 涉及人的生命科学和医学研究伦理审查办法[EB/OL]. (2023-02-28)[2026-02-28]. https://www.gov.cn/zhengce/zhengceku/2023-02/28/content_5743658.htm.
- [115] 科学技术部, 教育部, 工业和信息化部, 等. 科技伦理审查办法(试行) [EB/OL]. (2023-10-18)[2026-02-28]. https://www.most.gov.cn/xxgk/xinxifenlei/fdzdgnr/fgzcgfxwj/gfxwj2023/202310/t20231008_188309.html.
- [116] 科学技术部, 等. 需要开展伦理审查复核的科技活动清单[EB/OL]. (2023-12-01)[2026-02-28]. https://www.gov.cn/zhengce/zhengceku/202310/content_6908045.htm.
- [117] 科学技术部. 人源类器官研究伦理指引[EB/OL]. (2025-04-29)[2026-02-28]. <https://www.most.gov.cn/kjbgz/202504/P020250729547205340128.pdf>.