

## • 综 述 •

## 子宫内膜类器官研究进展

梁 悦, 许瑞雪, 蔡淑嫣 综述, 蒋学风<sup>△</sup> 审校

(暨南大学附属第一医院妇产科, 广东 广州 510632)

**[摘要]** 子宫内膜周期性改变过程中的失调均可导致子宫内膜相关疾病的发生、发展, 从而影响妇女健康。目前, 由于缺乏表征子宫内膜发生、发展特性的研究模型, 子宫内膜疾病发病机制研究和治疗药物开发受到一定限制。类器官是一种干细胞来源或原始组织来源的三维培养细胞群, 由于其遗传特征、组织学特征、生物学特征与原始组织、器官的一致性, 可代表来源器官或组织的功能。可传代扩增的子宫内膜类器官研究模型能保持基因组稳定性, 弥补了传统细胞与动物模型的不足。该文综述了子宫内膜类器官模型的优势及其组织学特征、遗传学特征、生物学特征及其相关应用。

**[关键词]** 子宫内膜; 类器官; 三维培养; 个性化治疗; 综述

**DOI:** 10.3969/j.issn.1009-5519.2023.02.027 **中图法分类号:** R711.22

**文章编号:** 1009-5519(2023)02-0304-05 **文献标识码:** A

**Advances in Endometrium Organoid**LIANG Yue, XU Ruixue, CAI Shuyan, JIANG Xuefeng<sup>△</sup>

(Department of Obstetrics and Gynecology, the First Affiliated Hospital of Jinan University, Guangzhou, Guangdong 510632, China)

**[Abstract]** Dysregulation of endometrial cyclic changes can lead to the development and progression of endometrium-related diseases, which can affect women's health. Currently, research on the pathogenesis of endometrial diseases and the development of therapeutic drugs are limited by the lack of research models characterizing the onset and development of endometrium. Organoid is a three-dimensional cultured cell population of stem cell origin or primary tissue origin that can represent the function of the source organ or tissue due to the consistency of its genetic, histological, and biological characteristics with those of the primary tissue or organ. The passage-expandable endometrial organoid research model can maintain genomic stability and compensate for the shortcomings of traditional cell and animal models. This article reviewed the advantages of endometrioid organ models and their histological features, genetic features, biological features, and their related applications.

**[Key words]** Endometrium; Organoid; Three-dimensional culture; Personalized treatment; Review

人类子宫内膜位于子宫内层, 是一种复杂的、动态的、可再生组织, 对人类生殖是必不可少的, 具有周期性脱落、修复、再生、重塑等特征, 此过程中产生任何变化均可导致子宫内膜相关疾病的发生, 影响妇女的健康。虽然对子宫内膜不同类型疾病的病理机制有了一定的了解, 但相关分子机制仍需深入挖掘。要研究与子宫内膜生物学相关的细胞和分子机制需建立合适的体内、外模型。

目前, 常用的模型有 2-D 细胞系培养、动物模型、患者来源的肿瘤异种移植模型等。单层细胞培养常

被用于疾病的体外研究, 然而, 传统二维细胞培养的细胞系因连续传代后的染色体积累突变、原发癌特性消失、三维(3D)空间结构的缺乏使其无法表现出原始组织的特性<sup>[1]</sup>。因此, 需更合适的体外细胞模型系统进行子宫内膜相关疾病的研究。

类器官指的是各种 3D 细胞结构, 其微结构、细胞组成及功能与天然组织相似。类器官作为一种新兴的技术可使干细胞无限扩张。患者来源的肿瘤类器官可培养 6 个月以上, 并形成与其来源肿瘤形态结构相似的细胞团。比较全面的组织学与基因表达分析

<sup>△</sup> 通信作者, E-mail: xuefengjiang@126.com。

证明,即使经过长期培养,患者来源的肿瘤类器官特性仍与其来源的肿瘤相似<sup>[2]</sup>。有研究表明,类器官已作为研究肠、肝、胰腺、前列腺、输卵管、肾脏等生理病理的宝贵工具<sup>[3]</sup>。类器官的出现为模拟和探索正常发育,疾病发生、发展过程,药物筛选提供了新的方式。目前,关于子宫内膜类器官的相关文献报道仍较少见,本文综述了子宫内膜类器官优势、特征及目前研究进展,旨在为揭示疾病发生、发展机制,研发相关药物提供模型参考。

## 1 子宫内膜类器官

子宫内膜类器官可由一种细胞类型组成,通常为上皮细胞,也可包括其他类型细胞。早在 1986 年有学者首次尝试建立子宫内膜类器官模型<sup>[4]</sup>。后来 TURCO 等<sup>[3]</sup>和 BORETTO 等<sup>[5]</sup>从小鼠和人类子宫内膜中提取内膜组织后成功培养了子宫内膜类器官,并且可长期传代,超过 4~6 个月。2019 年 BORETTO 等<sup>[6]</sup>和 FITZGERALD 等<sup>[7]</sup>进一步研究了来源于正常子宫内膜与异常子宫内膜的人类子宫内膜类器官的特性,包括子宫内膜类器官培养所需的特定成分、表型和遗传特征,以及其对激素的反应。同年 MURPHY 等<sup>[8]</sup>建立了一个包含子宫内膜上皮细胞和间质细胞的多细胞子宫内膜类器官模型,这种类器官模型由极化的上皮细胞和周围的间质细胞组成,具有分泌胶原、黏蛋白等功能特征。此模型由于包含上皮细胞和间质细胞,因此,可供研究这两种不同细胞类型之间的旁分泌作用。

**1.1 子宫内膜类器官的组织学特点** 来源于子宫内膜上皮的子宫内膜类器官表达上皮细胞标志物,如 E-钙黏蛋白、上皮细胞黏附分子、叉头框蛋白 A2、附膜蛋白和类固醇激素受体<sup>[3,5]</sup>。在结合了上皮细胞及间质细胞的多细胞子宫内膜类器官模型中,E-钙黏蛋白、广谱角蛋白、叉头框蛋白 A2 的表达位于类器官外周,中心细胞对基质细胞的标志物——波形蛋白呈阳性反应<sup>[9]</sup>。

**1.2 子宫内膜类器官的遗传学特点** 原代子宫内膜培养类器官通过 RNA 测序进行基因组分析发现,这些子宫内膜类器官更接近腺体而不是间质,体现了来源组织子宫内膜腺体的分子学特征<sup>[10]</sup>。FITZGERALD 等<sup>[7]</sup>对子宫内膜类器官的基因组特征进行了研究,采用 RNA 测序方法对雌激素、孕激素影响下的子宫内膜类器官进行了全面分析,结果显示,子宫内膜类器官中存在几种不同上皮细胞类型,其比例和基因表达随激素处理的改变而改变。表明子宫内膜类器官模型是研究人类子宫内膜生理学和病理学

重要工具。

**1.3 子宫内膜类器官的生物学特点** 子宫内膜来源的类器官能形成腺样组织,其顶端有微绒毛和纤毛<sup>[3,5]</sup>,在类器官的管腔中可见子宫内膜腺体分泌的糖原。在 Matrigel 培养系统的多孔胶原支架模型中上皮细胞极化,顶端表面有面对孔腔的微绒毛和纤毛,其基底表面附着在支架上,形成细胞外基质蛋白<sup>[11]</sup>。将上皮细胞与基质细胞一起置于微模琼脂糖凝胶系统中培养,类器官则表现出不同的组织结构:上皮细胞在外层,基质细胞位于类器官中央。上皮细胞极化,细胞核位于离基质最近的细胞基底外侧,可向外分泌黏蛋白,而位于类器官中央的基质细胞则分泌胶原<sup>[9]</sup>。

## 2 子宫内膜类器官的应用

类器官已成为一种强大的体外研究介质,可由多能干细胞或成体干细胞建立,能保留遗传、表型和行为特征。子宫内膜类器官作为一种理想研究模型可用于病理生理学研究、药物筛选、基因编辑修饰、微环境研究、肿瘤标志物研究、个体化精准治疗、形成子宫内膜相关疾病的类器官生物库等。

**2.1 生物库** 类器官可快速增殖、超低温保存并用于高通量筛选。类器官的培养使来自个体患者的病变细胞直接扩增,能建立起肿瘤类器官生物库,并且促进患者的个体化治疗<sup>[12]</sup>。BORETTO 等<sup>[6]</sup>研究了良、恶性子宫内膜患者来源的类器官,这些类器官成功地向人们展现了原发性疾病的组织学和异质性,保留了遗传和分子特征,包括 p53 状态、激素受体状态和微卫星不稳定性表型。

**2.2 药敏试验** TURCO 等<sup>[3]</sup>从绝经后妇女子宫内膜癌组织中提取并培养了子宫内膜癌类器官,类器官形态与原发肿瘤(国际妇产科医师联合会 I 级子宫内膜癌)相似,表现为多形细胞、细胞核深染、上皮结构紊乱等。这些细胞器对腺体标志物,如附膜蛋白和 SOX17 蛋白呈阳性反应,进而证实其腺体起源。BORETTO 等<sup>[6]</sup>进一步研究了从低级别至高级别子宫内膜癌患者来源的类器官,这些类器官均准确展现了肿瘤的异质性和突变情况,并可进行患者特异性药敏反应。恶性来源的类器官也越来越多地用于药物筛选及放射敏感性分析的临床前模型,几种化疗药物(如紫杉醇、5-氟尿嘧啶、卡铂、阿霉素等)和维罗莫司(哺乳动物雷帕霉素靶蛋白抑制剂)已在患者来源的子宫内膜癌类器官上进行了药敏试验<sup>[6]</sup>。在大多数样本研究中信号转导因子和转录激活因子 3 转录因子抑制剂 BBI608 和紫杉醇几乎能显著抑制类器官生长,

酪氨酸激酶抑制剂和氟维司琼(雌激素受体拮抗剂)则能抑制部分类器官生长,而顺铂、醋酸甲地孕酮、醋酸甲羟孕酮、左炔诺孕酮、米非司酮对子宫内膜类器官生长无明显影响。此药敏试验结果与临床反应有差异,可能是由于原代类器官是在基底膜提取物及无血清情况下培养的,不需另外给予生长因子,而是由肿瘤内所有细胞成分的重新组合<sup>[13]</sup>。另外,DASARI 等<sup>[14]</sup>利用子宫内膜类器官作为模型,研究了维替普芬(VP)对子宫内膜癌类器官的影响,用 VP 处理后子宫内膜癌类器官存活率、侵袭性下降,而这些效果最早在处理后的 15 min 出现,表明 VP 是治疗子宫内膜癌的一种有效的化疗药物。另外,BI 等<sup>[15]</sup>使用类器官预测了患者对药物的临床反应,并且成功预测了术前接受新辅助曲妥珠单抗治疗患者术后化疗及对曲妥珠单抗的耐药性。总之,类器官可作为妇科癌症患者个性化治疗的临床前平台。

**2.3 基因编辑修饰** 子宫内膜类器官使得能够通过病毒或非病毒方法对细胞进行遗传修饰,有利于基因编辑和修饰。成簇的规律间隔的短回文重复序列(CRISPR)/规律间隔成簇短回文重复序列相关蛋白系统 9(Cas9)是最具有吸引力的基因编辑技术,能操控来自源组织或诱导性多能干细胞类器官中的基因组序列<sup>[16]</sup>。ARTEGANI 等<sup>[17]</sup>使用 CRISPR/Cas9 技术将标有荧光标记的基因导入单个细胞内,这些转基因的类器官可得以研究细胞增殖及再生途径机制。子宫内膜类器官可与基因编辑技术结合,通过改变基因突变位点建立相应类器官模型,从而观察肿瘤细胞变化。

**2.4 微环境** 人体疾病的发生、发展是由细胞与周围环境双向相互作用的复杂系统作用所致,这种相互作用的系统称为微环境。部分非高级别浆液性卵巢上皮癌,包括子宫内膜样腺癌及透明细胞卵巢腺癌,被认为受到子宫内膜异位微环境的影响<sup>[18-19]</sup>。MC-MILLI 等<sup>[20]</sup>发现,癌细胞和周围基质的互相作用可影响肿瘤细胞的增殖和生长。在子宫内膜癌中,细胞外基质衍生的转化生长因子- $\beta$  信号可促进肿瘤细胞的转移潜能<sup>[21]</sup>。GRUND 等<sup>[22]</sup>研究表明,肿瘤坏死因子- $\alpha$  可刺激 12Z 细胞从而产生炎症信号,而 WENDEL 等<sup>[23]</sup>发现,单层细胞中的 12Z 细胞并未表达炎症细胞因子,但经肿瘤细胞因子- $\alpha$  刺激后白细胞介素-6、白细胞介素-8、单核细胞趋化蛋白-1 分泌增加,表明单层 12Z 细胞需外界刺激才能表达炎性微环境;随后其将 12Z 细胞以 Kenzan 方式培养成类器官,结果显示,可以不需要额外刺激的情况即可产生炎性信

号因子。另外,对子宫良性疾病而言,微环境的研究也十分重要。带有致病细菌或病毒定植于子宫导致的子宫内膜炎常被认为是不孕的常见原因<sup>[24]</sup>。DOLAT 等<sup>[25]</sup>直接在极化上皮顶端表面注射衣原体菌株,其感染导致细胞骨架及高尔基体重组,细胞之间连接紊乱。感染的类器官与骨髓来源的中性粒细胞共同培养,中性粒细胞可渗透至细胞外基质并向感染的类器官迁移。通过研究微环境的变化,可进一步了解疾病的发生、发展。因此,类器官作为一种十分有前途的体外模型,可用于研究细胞的微环境,为进一步了解疾病提供帮助。

**2.5 肿瘤标志物的研究** COCHRANE 等<sup>[26]</sup>用单细胞测序研究了来源于正常子宫内膜的类器官模型,利用单细胞测序区别子宫内膜类器官中的不同成分上皮细胞(纤毛细胞与分泌细胞),从而发现子宫内膜纤毛细胞或分泌细胞新的特异性标志物;其用免疫组织化学的方法验证了分泌细胞标志物——巯基丙酮酸硫转移酶及纤毛细胞标志物——FAM92B、WDR16 和 DYDC2,对子宫内膜肿瘤进行单细胞测序发现,其均有分泌样瘤细胞和纤毛样瘤细胞,并且发现了纤毛细胞标志物——DYDC2、CTH、FOXJ1、P73 和分泌细胞标志物——巯基丙酮酸硫转移酶在子宫内膜肿瘤中均有表达,其表达与子宫内膜恶性肿瘤患者的疾病特异性和总生存期呈正相关。使用类器官进行单细胞测序发现了子宫内膜恶性肿瘤新的肿瘤标志物,为研究肿瘤标志物提供了新的途径。

**2.6 治疗** Asherman 综合征是子宫性不孕的主要原因,其特征为子宫内膜受损,缺乏上皮细胞,从而组织子宫内膜再生。JIANG 等<sup>[27]</sup>将培养的子宫内膜类器官移植至子宫内膜受损模型大鼠体内发现,子宫内膜类器官可促进子宫内膜再生与血管生成,为治疗 Asherman 综合征提供了新的思路。另外,对需激素治疗的女性而言,还可利用子宫内膜类器官提前给予激素治疗,给予不同剂量雌激素与孕激素组合以评估内膜增殖与分化程度。MIYAZAKI 等<sup>[28]</sup>研究表明,由多能干细胞分化为孕激素敏感的子宫内膜基质细胞可用于治疗子宫内膜异位症。

### 3 展 望

新技术的进步改变了研究方式,类器官的出现为研究子宫内膜及其相关疾病提供了无限可能。其从体细胞中产生干细胞并且能保留原始基因的能力已为精准个性化研究特定疾病的病理生理提供了线索。未来还可增加类器官模型中的复杂性,向其中增加其他细胞类型,更真实地模拟体内多细胞环境,从而对

疾病的生理病理有更深层次的理解。如癌症来源的类器官可与免疫细胞共同培养已成为癌症个体化免疫治疗的一种很有前景的研究方式。还可将 3D 生物打印和芯片模型与类器官的结合。3D 生物打印背后的原理是将原始细胞类型或干细胞输送到生物材料和大分子上,以生成可移植的逼真的 3D 结构。类器官芯片则是通过多细胞共同培养,严格控制机械、电器、生化刺激下的持续液体循环,从而模拟体内生理变化。另外,还可进行各种基因操作,如 DNA 碱基编辑、RNA 靶向、表观基因组编辑和基因表达操控。

## 参考文献

- [1] SIMIAN M, BISSELL M J. Organoids: A historical perspective of thinking in three dimensions[J]. *J Cell Biol*, 2017, 216(1): 31-40.
- [2] TAMURA H, HIGA A, HOSHI H, et al. Evaluation of anticancer agents using patient-derived tumor organoids characteristically similar to source tissues[J]. *Oncol Rep*, 2018, 40(2): 635-646.
- [3] TURCO M Y, GARDNER L, HUGHES J, et al. Long-term, hormone-responsive organoid cultures of human endometrium in a chemically defined medium[J]. *Nat Cell Biol*, 2017, 19(5): 568-577.
- [4] KIRK D, ALVAREZ R B. Morphologically stable epithelial vesicles cultured from normal human endometrium in defined media[J]. *In Vitro Cell Dev Biol*, 1986, 22(10): 604-614.
- [5] BORETTO M, COX B, NOBEN M, et al. Development of organoids from mouse and human endometrium showing endometrial epithelium physiology and long-term expandability[J]. *Development*, 2017, 144(10): 1775-1786.
- [6] BORETTO M, MAENHOUDT N, LUO X, et al. Patient-derived organoids from endometrial disease capture clinical heterogeneity and are amenable to drug screening[J]. *Nat Cell Biol*, 2019, 21(8): 1041-1051.
- [7] FITZGERALD H C, DHAKAL P, BEHURA S K, et al. Self-renewing endometrial epithelial organoids of the human uterus[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2019, 116(46): 23132-23142.
- [8] MURPHY A R, WIWATPANIT T, LU Z, et al. Generation of multicellular human primary endometrial organoids [J]. *J Vis Exp*, 2019 (152): 10.
- [9] WIWATPANIT T, MURPHY A R, LU Z, et al. Scaffold-free endometrial organoids respond to excess androgens associated with polycystic ovarian syndrome[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2020, 105(3): 769-780.
- [10] HIBAOUI Y, FEKI A. Organoid models of human endometrial development and disease[J]. *Front Cell Dev Biol*, 2020, 8: 84.
- [11] ABBAS Y, BRUNEL L G, HOLLINSHEAD M S, et al. Generation of a three-dimensional collagen scaffold-based model of the human endometrium [J]. *Interface Focus*, 2020, 10(2): 20190079.
- [12] LI Y, TANG P, CAI S, et al. Organoid based personalized medicine: From bench to bedside [J]. *Cell Regen*, 2020, 9(1): 21.
- [13] GIRDA E, HUANG E C, LEISEROWITZ G S, et al. The use of endometrial cancer patient-derived organoid culture for drug sensitivity testing is feasible[J]. *Int J Gynecol Cancer*, 2017, 27(8): 1701-1707.
- [14] DASARI V R, MAZACK V, FENG W, et al. Verteporfin exhibits YAP-independent anti-proliferative and cytotoxic effects in endometrial cancer cells[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(17): 28628-28640.
- [15] BI J, NEWTSON A M, ZHANG Y, et al. Successful patient-derived organoid culture of gynecologic cancers for disease modeling and drug sensitivity testing[J]. *Cancers (Basel)*, 2021, 13(12): 2901.
- [16] MATANO M, DATE S, SHIMOKAWA M, et al. Modeling colorectal cancer using CRISPR-Cas9-mediated engineering of human intestinal organoids[J]. *Nat Med*, 2015, 21(3): 256-262.
- [17] ARTEGIANI B, HENDRIKS D, BEUMER J, et al. Fast and efficient generation of knock-in human organoids using homology-independent CRISPR-Cas9 precision genome editing[J]. *Nat Cell Biol*, 2020, 22(3): 321-331.
- [18] WORLEY M J, WELCH W R, BERKOWITZ R S, et al. Endometriosis-associated ovarian

- cancer: A review of pathogenesis[J]. *Int J Mol Sci*, 2013, 14 (3): 5367-5379.
- [19] ZHANG C, WANG X, ANAYA Y, et al. Distinct molecular pathways in ovarian endometrioid adenocarcinoma with concurrent endometriosis[J]. *Int J Cancer*, 2018, 143 (10): 2505-2515.
- [20] MCMILLIN D W, NEGRI J M, MITSIADES C S. The role of tumour-stromal interactions in modifying drug response: challenges and opportunities[J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2013, 12(3): 217-228.
- [21] SAHOO S S, QUAH M Y, NIELSEN S, et al. Inhibition of extracellular matrix mediated TGF- $\beta$  signalling suppresses endometrial cancer metastasis[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(42): 71400-71417.
- [22] GRUND E M, KAGAN D, TRAN C A, et al. Tumor necrosis factor-alpha regulates inflammatory and mesenchymal responses via mitogen-activated protein kinase kinase, p38, and nuclear factor kappaB in human endometriotic epithelial cells [J]. *Mol Pharmacol*, 2008, 73 (5): 1394-1404.
- [23] WENDEL J, WANG X, SMITH L J, et al. Three-dimensional biofabrication models of endometriosis and the endometriotic microenvironment[J]. *Biomedicine*, 2020, 8 (11): 55.
- [24] PUENTE E, ALONSO L, LAGAN? A S, et al. Chronic endometritis: Old problem, novel insights and future challenges [J]. *Int J Fertil Steril*, 2020, 13(4): 250-256.
- [25] DOLAT L, VALDIVIA R H. An endometrial organoid model of interactions between Chlamydia and epithelial and immune cells[J]. *J Cell Sci*, 2021, 134(5): jcs252403.
- [26] COCHRANE D R, CAMPBELL K R, GREENING K, et al. Single cell transcriptomes of normal endometrial derived organoids uncover novel cell type markers and cryptic differentiation of primary tumours[J]. *J Pathol*, 2020, 252(2): 201-214.
- [27] JIANG X, LI X, FEI X, et al. Endometrial membrane organoids from human embryonic stem cell combined with the 3D Matrigel for endometrium regeneration in asherman syndrome [J]. *Bioact Mater*, 2021, 6(11): 3935-3946.
- [28] MIYAZAKI K, DYSON M T, COON V J S, et al. Generation of progesterone-responsive endometrial stromal fibroblasts from human induced pluripotent stem cells: Role of the WNT/CTNNB1 pathway [J]. *Stem Cell Reports*, 2018, 11(5): 1136-1155.

(收稿日期: 2022-03-31 修回日期: 2022-07-21)

(上接第 303 页)

- [27] 张婉琪, 程纓淋, 黄惠春, 等. 高度近视合并白内障患者术后人工晶状体位移对屈光度的影响 [J]. *眼科新进展*, 2019, 4(39): 376-378.
- [28] LAMSON T L, SONG J, ABAZARI A, et al. Refractive outcomes of phacoemulsification after pars plana vitrectomy using traditional and new intraocular lens calculation formulas[J]. *J Cataract Refract Surg*, 2019, 45(3): 293-297.
- [29] HOU Y, LIU L, WANG G, et al. Different lens power calculation formulas for the prediction of refractive outcome after phacoemulsification with silicone oil removal [J]. *BMC Ophthalmol*, 2022, 22(1): 74.
- [30] SHU Z M, LI F Q, CHE S T, et al. Topical review: Causes of refractive error after silicone-oil removal combined with cataract surgery [J]. *Optom Vis Sci*, 2020, 97(12): 1099-1104.

(收稿日期: 2022-04-26 修回日期: 2022-08-25)