



鲁立, 上海交通大学博士, 副研究员, 现任职上海实验动物研究中心科研管理部。此前曾任中国科学院分子细胞科学卓越创新中心科技期刊《细胞研究》《细胞发现》科技副编审、加拿大卡尔加里大学副研究员等职位。专业方向为分子细胞生物学、科技论文编审。曾主持和参与国家自然科学基金、上海市科委自然科学基金、中国科技期刊卓越行动计划等项目, 在 *Neuron*、*Nature Communications* 等期刊上发表 SCI 论文 10 余篇, 参编专著《神经元突触传递的细胞和分子生物学》。



汤恣, 加州大学圣地亚哥分校纳米工程博士, 上海中医药大学青年研究员, 赛笛(上海)生物科技有限公司首席科学家。研究工作聚焦于生物制造技术在肿瘤研究和组织工程中的应用。在 *Cell Research*、*Advanced Materials* 等期刊发表 SCI 论文 20 余篇, ESI 高被引论文 1 篇, 参写 Elsevier 出版的 3D 生物打印学术专著。入选 2023 年度上海市领军人才(海外)项目, 2020 年度国家优秀自费留学生奖学金。曾主持国家自然科学基金项目 1 项、上海市科委项目 2 项。申请发明专利 6 件。

万颖寒, 同济大学生物工程硕士, 助理研究员, 主要从事以小鼠表型分析为主的疾病动物模型研究, 现任职于上海实验动物研究中心科研管理部。工作期间, 参与上海市科委的多个科研项目, 曾负责上海市科委实验动物领域项目管理, 在国内外学术期刊上发表论文 10 余篇。



FDA 现代化法案 2.0 给疾病动物模型发展带来的启示和思考

万颖寒¹, 顾也欣², 袁雨浓^{2,3}, 汤恣², 鲁立¹

[1. 上海实验动物研究中心, 上海 201203; 2. 赛笛(上海)生物科技有限公司, 上海 201312; 3. 澳大利亚悉尼大学医学与健康学院, 悉尼 2006]

[摘要] 实验动物是生命科学研究和生物医药产业发展的基础条件, 是科学探索和医疗健康事业中不可或缺的技术支撑。科学地开发疾病动物模型对生物医药科研和产业发展意义重大。但鉴于多种新兴体外建模技术在过去十年中的蓬勃发展, 2022 年美国国会全票通过了 *FDA Modernization Act 2.0* (即《美国食品药品监督管理局现代化法案 2.0》, 简称 FDA 现代化法案 2.0), 取消了自 1938 年以来实施的 FDA 批准新药进入人体临床试验前必须经过动物实验的联邦强制要求, 并正式提出体外疾病模型也可以被运用在临床前试验中, 但并未禁止开展动物实验。本文解读了 FDA 现代化法案 2.0 的由来, 介绍了细胞培养、类器官、器官芯片、生物 3D 打印模型和计算机模型这 5 种体外建模方式在科研、生物化工和制药业中的最新应用及其各自的优缺点, 同时概括了实验动物和疾病动物模型发展的新趋势, 并关注各种模型之间的交叉应用, 旨在为我国今后的疾病动物模型发展提供一些参考。

[关键词] 疾病动物模型; 体外疾病模型; 类器官; 器官芯片; 生物 3D 打印; FDA 现代化法案 2.0

[中图分类号] R-332; Q95-33 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1674-5817(2023)05-0472-10



Implications on the Development of Animal Disease Models from *FDA Modernization Act 2.0*

WAN Yinghan¹, GU Yexin², YUAN Yunong^{2,3}, TANG Min², LU Li¹

(1. Shanghai Laboratory Animal Research Center, Shanghai 201203, China; 2. Cyberiad Biotechnology Ltd.,

[基金项目] 上海市科学技术委员会科技计划项目“3D 打印脑胶质瘤肿瘤免疫类器官”(21140900700)

[第一作者] 万颖寒(1984—), 女, 硕士, 助理研究员, 研究方向: 疾病动物模型表型相关研究。E-mail: wanyinghan@slarc.org.cn;

[通信作者] 鲁立(1979—), 女, 博士, 副研究员, 研究方向: 细胞分子生物学。E-mail: luli@slarc.org.cn;

汤恣(1992—), 女, 博士, 青年研究员, 研究方向: 生物 3D 打印。E-mail: min@cyberiad.cn。ORCID: 0000-0002-6084-1827

Shanghai 201312, China; 3. Faculty of Medicine and Health, University of Sydney, Sydney, 2006, Australia)

Correspondence to: LU Li, E-mail: luli@slarc.org.cn;

TANG Min (ORCID: 0000-0002-6084-1827), E-mail: min@cyberiad.cn

[ABSTRACT] Laboratory animals are the foundational conditions and indispensable technical support in life science research and biomedical industry development. The scientific development of animal models of diseases is of great significance to biomedical research and industrial development. In light of the booming development of multiple emerging *in vitro* modelling technologies over the past decade, in 2022, the U.S. Senate unanimously passed the bill *FDA Modernization Act 2.0*. This bill rescinded the requirement for animal testing in investigating the safety and effectiveness of a drug—a federal mandate since 1938, and highlighted the potential of various *in vitro* disease modeling approaches in future biomedical fields. This paper provides a comprehensive review of the latest advances and applications of *in vitro* disease modeling approaches in academia and industry followed by an interpretation of the FDA bill, namely cell culture, organoid, organ-on-a-chip, 3D bio-printing model and computer-based model. The paper next introduces the crossed applications of various disease models and discusses the advantages and disadvantages of each system, thereby providing insights into future trends in the use of animal disease models in China.

[Key words] Animal disease models; *In vitro* disease models; Organoid; Organ-on-a-chip; 3D bio-printing; *FDA Modernization Act 2.0*

在 21 世纪的医药研发领域，动物实验被视为药物安全性和有效性评价的金标准。然而随着科技和社会的进步，这种传统的实验模式正在面临挑战。美国国会于 2022 年底全票通过了 S.5002-*FDA Modernization Act 2.0*（即《美国食品药品监督管理局现代化法案 2.0》，简称 FDA 现代化法案 2.0^[1]），这是对 1938 年正式签署的 *Food, Drug and Cosmetic Act*《联邦食品、药品和化妆品法案》的一次重要内容修订，标志着体外疾病模型可被正式用于药物临床前试验评估。这一重大的变革引发了学术界和工业界的广泛讨论。追溯变革的背后，一方面是由于种属差异等原因，在传统动物模型中测试的药物效果往往不能准确反映人体中的药物疗效。据统计，在动物实验中有效的药物超过 80% 在临床试验中都失败了，其中逾 60% 归因于有效性不足，30% 则源于安全性问题^[2]，这大大增加了新药研发的成本和时间。另一方面是人道主义理念的持续推动。20 世纪 50 年代，英国科学家 William Russell 和 Rex Burch 提出了著名的实验动物使用 3R 原则，即减少（Reduce）、优化（Refine）、替代（Replace）动物使用，通过改进实验设计、规范动物实验操作程序等来改善实验动物福利。随后几十年来，利用替代实验减少实验动物用量一直是动物福利研究的重要方向，研究人员一直致力于开发体外疾病模型，以期弥补动物模型在预测人体药物反应方面的局限性，切实提高动物福利。

本文介绍了疾病体外模型和动物模型的发展前沿以及在科研、生物制药和生物化工工业中的应用进展，梳理了不同建模方式各自的特点和运用场景，总结了目前两大建模方式在实际应用中相辅相成的关系，展望它们之间融合发展可对未来生物医药行业发挥更有力的支撑作用。

1 疾病体外模型的发展和应用

疾病体外模型主要包括以下几类：体外细胞模型、类器官、器官芯片、生物 3D 打印模型和计算机模型。这些模型旨在为药物筛选和毒性测试提供更贴近真实人体生理系统的研究模型，以便进行具有临床意义的药物安全性和有效性评估。

1.1 体外细胞模型

细胞实验是一种在体外平面培养环境下进行细胞水平实验的方法，该方法通常包括细胞的采集、培养、处理以及分析，以评估药物对细胞活性的作用机制和生物学效应^[3]。在大多数体外模型中，细胞实验的结果可以预测人体对药物的反应。因此，如何选择合适的细胞种类进行实验是几乎所有体外模型制备的首要问题。

细胞可以从动物或人体组织中直接获取的原代细胞和在此基础上转分化而来的诱导型多能干细胞（induced pluripotent stem cells, iPSCs），也可以是从原代细胞在体外筛选制备而来的细胞系或永生化的肿瘤

细胞系, 每种细胞类型各有其优缺点。一方面, 细胞系易获取和分析, 适用于初期筛选和验证, 然而体外长时间培养的细胞系存在遗传漂变, 倾向于快速发生新的基因突变, 形成遗传背景各异的亚克隆, 进一步增加了药物筛选的难度^[4]。另一方面, 原代细胞虽能够真实反映体内特性, 但供体间差异大, 难以标准化, 并且难以大规模获取, 尤其对于脑、心等组织的原代细胞获取更为困难。iPSCs作为诱导型干细胞, 可以来自不同个体(包括患者), 兼具细胞系的增殖能力和原代细胞的特征, 能够解决个体特异性原代细胞来源受限的问题。iPSCs面临的挑战在于其诱导分化到特定细胞的成本较高, 且需要一定的时间周期。

细胞实验在药物研发中应用广泛, 具有成本低、周期短、可重复性高、伦理问题少等优点, 应用范围包括药物靶点鉴定和验证、生物活性评估、药物筛选、研究药物作用的分子机制等。然而, 平面培养环境与体内环境差异大, 对细胞实验结果也会产生影响, 且其结果的生物学意义有限。改进培养环境如采用3D立体培养、结合微流控(microfluidics)等技术可提高细胞实验生物学代表性和对人体反应的预测能力^[5]。

1.2 类器官

类器官是将干细胞在体外采用3D立体培养技术进行扩增分化而形成的多种细胞团簇, 它们经过自组装在体外呈现有序的空间立体排列, 并具有某些器官特异性的功能。类器官的培养是将干细胞种植到基质胶等半固体的培养基上, 在体外立体培养的环境中加入细胞生长分化所需的生长因子和某些信号通路的抑制剂, 模拟体内器官发育的过程, 生成多谱系细胞类型的微型立体器官样结构。世界上首次成功建立的类器官是荷兰Hubrecht研究所的Hans Clevers实验室在2009年建立的小肠上皮类器官^[6]。目前, 全身各种组织都可以在体外构建3D培养的类器官, 包括小肠、视网膜、脑、肝脏、肾脏、胃、肺、胰腺、结肠、心脏和血管等。类器官技术被视为干细胞培养和应用的新的里程碑, 多个国际权威的生物医学期刊对类器官技术都给予了高度评价: 2013年类器官技术被*Science*(即《科学》)列入年度十大科学突破; 2015年被*MIT Technology Review*(即《麻省理工科技评论》)列为十大科技突破之一; 2017年*Nature Methods*(即《自然方法》)将类器官评选为年度技术; 2019年被*NEJM*(即《新英格兰医学》)杂志列为优秀的临床前疾病模型。

类器官根据起始培养的干细胞类型可以分为胚胎

干细胞来源和成年干细胞来源的类器官。胚胎干细胞来源的类器官具有长达数月的分化周期, 可模拟体内胚胎发育过程, 分化出的细胞类型多样, 形成较为复杂的类器官, 可被用于成年再生能力弱的组织的类器官制备, 如脑、肾小球, 也多被用以研究胚胎发育的分子机制和遗传疾病的发生机制。Taguchi等^[7]通过外源加入Wnt信号刺激使人胚胎干细胞发生体外分化, 建立了含有肾小球和肾小管的肾脏类器官, 这是由胚胎干细胞制备的类器官代表之一。除此之外, 类器官还可以从成年iPSCs或成体干细胞(adult stem cells, ASCs)分化而来。由ASCs分化而成的类器官细胞种类相对更简单, 常由上皮细胞组成且缺乏神经血管和组织内髓质成分, 但制备周期短。第一个成功建立的小肠类器官就是由小肠隐窝处分离出的Lgr5⁺成体肠道上皮干细胞培养而来^[6]。

类器官技术在近十年来飞速发展, 不断成熟, 已被应用于疾病建模、再生医学、精准治疗等多个方面的研究, 并展现出独特的优势。以下简要介绍类器官在这几个领域的前沿应用。

1.2.1 种属特异性的传染性疾病建模

有些人类传染病的病原体存在宿主选择性, 难以在常规实验动物上制备疾病模型, 类器官则可以解决这一难题。例如, 新冠病毒感染具有种属特异性, 在野生型实验大鼠、小鼠上难以建立有效的感染模型^[8]。研究人员用人体上呼吸道和肺泡上皮细胞培养出肺类器官组织, 成功构建了新冠病毒体外感染模型, 证实了新冠病毒进入人体细胞的膜表面受体是血管紧张素受体ACE2^[9]; 随后有研究者又进一步在人肠道上皮类器官上也鉴定出表达这些膜受体的肠道上皮细胞, 解释了新冠病毒感染患者会出现呼吸道和肠道症状的原因; 在此模型基础上, 研究者利用肺类器官成功验证了能阻断病毒和膜受体结合的药物有效抗感染性, 助力了新冠病毒感染相关药物的研发及应用^[10]。

1.2.2 器官移植和再生医学

类器官可以来源于自身细胞, 且制备周期较短, 不存在异体排斥反应, 是弥补供体器官来源不足的理想途径。例如, 成年哺乳动物的神经系统再生能力很弱, 研究神经系统损伤修复一直是再生医学的热点。最新的研究显示, 体外培养的脑皮质类器官移植到视觉皮质受损的大鼠脑内, 可长期存活并发出神经突起, 最终整合到宿主的视觉功能环路中, 有效帮助视觉恢复^[11]。这为神经系统损伤修复研究提供了新思路。

1.2.3 肿瘤精准医疗

ASCs 可以从患者穿刺样本或术后组织中获得, 因此制备个体特异性类器官成为可能。患者来源的类器官 (patient-derived organoids, PDOs) 已经成为个性化筛选药物和治疗方案的有力的生物学工具。Vlachogiannis 等^[12] 用 71 名转移性胃肠癌患者的肿瘤组织构建了患者来源的肿瘤类器官生物样本库, 在 PDOs 和相应的患者体内共测试了 55 种抗癌药物。与患者自身的药物反应相比, 类器官进行药物筛选的特异性为 93%, 灵敏度为 100%, 阳性预测率为 88%, 阴性预测率为 100%, 展现出极高的临床相关性。由此可见, 类器官可被应用于疾病体外模型建立和药物筛选, 并具有来源化、个体特异性、制备周期较短等优势。

类器官用于肿瘤医疗也面临着诸多问题。例如, 由于缺乏体内代谢物和内环境等复杂的反馈调节, 体外培养的类器官总体成熟度不高, 类器官的大小目前只能达到数毫米, 尚无法满足临床上大多数器官移植的要求; 肿瘤类器官虽然能更好地保留原位肿瘤的遗传信息^[13], 但由于缺乏与体内其他系统的交互微环境, 无法用于测试针对肿瘤微环境的药物效果, 也不能用于研究恶性肿瘤的转移机制。同时, 类器官模型的制备过程也存在不少挑战, 如样本间异质性高, 细胞组成、分布、形成的结构和功能难以精确控制。另外, 类器官制备缺乏统一的标准, 无论是生物样品采集还是体外培养的材料、条件和方法在不同实验室有着很大差异, 导致不同实验室制备出的同一种类器官结构功能各异, 缺乏重复性, 这给系统性评价类器官疾病模型和药物疗效带来了不确定因素^[14]。

1.3 器官芯片

器官芯片 (organ-on-a-chip) 或称为“微生理系统” (microphysiological systems), 是在细胞实验基础上增加了微流控的技术, 旨在更好地模拟组织的基本功能单位, 以满足药物机制研究和药效评价的要求。这一技术起源于微电子、微机械和生物医学工程等领域的跨学科研究。自 21 世纪初以来, 器官芯片技术得到了快速发展, 越来越多地应用于药物研发、疾病模型构建和生物医学研究等领域^[15]。2010 年, 哈佛大学 Ingber 教授团队首次报道了一种模拟肺泡组织的微流控芯片^[13], 命名为“肺器官芯片”, 这一研究奠定了器官芯片的概念基础, 并在过去十多年间取得了显著发展。研究者们已发展了各种用于药物安全性评价的器官芯片, 如皮肤^[16]、肺^[17]、消化道^[18]、肾脏^[19]、肝脏^[20]、血管^[21]等微生理系统。为了推动器官芯片

技术的发展, 2012 年美国国立卫生研究院 (National Institute of Health, NIH) 和 FDA 联合国防高级研究计划局 (Defense Advanced Research Projects Agency, DARPA) 投入了 7 500 万美元, 启动了为期 5 年的“微生理系统计划”。该计划重点研究如何将至少 10 个人体器官芯片进行整合, 实现不同组织模型间的生理交互。同年, NIH 还启动了“用于药物筛选的组织芯片”项目群, 分别资助不同组织和器官芯片的开发, 以及用于建立微生理系统的干细胞诱导分化研究。这些计划的实施进一步推动了器官芯片技术在药物研发领域的应用和发展。

器官芯片使用从微观到宏观的逆向组织工程方法构建, 重现具备亚结构核心功能的 3D 组织排布, 可研究与体内高度一致的细胞相互作用, 并模拟组织相关生物力学特性, 如血流剪切力和心肺拉伸力。这些特性使器官芯片与静态自组装生长的类器官等其他 3D 模型有显著差异。动态生物力学特性有助于维持细胞表型并防止去分化, 流体流动可更真实地模拟生理环境的物质传输和废物排放, 从而使器官芯片在药物动力学研究领域有更大的应用潜力。设计用于器官芯片的微流控载体时, 需要综合考虑模拟组织结构的通道设计、细胞互动的交互方式、生物力学加载和药物载入及生物表征的方法。如肺器官芯片使用两层通道结构, 上层模拟肺泡上皮, 下层模拟内皮层。两层间由弹性多孔膜隔开, 以支持细胞互动。上皮层通过气体模拟气道, 内皮层用培养基模拟血管, 形成气/液界面。另外, 设计有气压通道, 通过循环加载气压拉伸多孔膜, 模拟肺泡舒张的力学效应。这种设计随后被拓展到消化道、心脏、血脑屏障等器官芯片。

器官芯片的显著特色和优势是能够实现组织功能的联动。如口服药物首先通过消化道芯片吸收, 经肝脏芯片代谢后, 通过循环系统和心脏芯片, 抵达肺芯片、血脑屏障等目标组织后, 通过肾芯片排出, 在体外完整再现了药物的吸收、分布、代谢与排泄, 结合计算机模拟, 为药物动力学研究提供了一个生理相关性更高的人体外模型, 被称为“人体芯片” (body-on-a-chip)。这也是 2012—2017 年 DARPA 启动 5 年项目所致力实现的目标^[22]。值得关注的是, 多芯片联用并非简单地将不同芯片连接在一起, 它涉及几个难点: (1) 不同组织模型相连时的尺寸匹配以及不同部位流速控制的问题; (2) 不同组织培养下统一培养基选择的问题; (3) 由于无法像动物模型那样构建完整的生命体, 即使是再复杂的联用系统也会有缺失组织, 因此需要

从细胞和药物代谢角度考虑缺失器官可能造成的影响。目前,大多数研究通常联用2~4个器官芯片,也有报告成功联用了10种器官芯片,并能长期培养体外组织达4周^[23]。

器官芯片提供了一个高度可控、微小化的平台,用于模拟和研究生物系统,具有重要的科研和临床意义。然而,现阶段的器官芯片仅能模拟一些基本的生理环境,如血流、氧气供应等,但由于生物体内环境的复杂性,器官芯片尚无法全面模拟复杂的生理过程,如免疫系统反应、激素分泌,其预测人体真实反应的能力可能存在一定偏差。其次,不同于类器官或生物3D打印模型,器官芯片并不能被植入到体内,其应用主要局限于体外研究,无法直接应用于再生医学或其他需要在体内进行的实验或治疗领域。最后,器官芯片涉及精密的制造及微流控技术,过程复杂且成本较高,开展相关实验的门槛较高。

1.4 生物打印模型

生物3D打印是一项跨学科的生物工程技术,通过精确组合生物材料、细胞或生物活性分子,实现仿生的生物组织和器官结构再现,可制作类器官、器官芯片等体外模型^[24-25]。该技术的重要特点在于能够高精度地控制细胞及材料的空间分布、组合、性质,从而在模拟器官组织成分的基础上,更进一步地模拟组织和器官的微观形态结构,形成更具有功能性的体外模型,同时保证模型兼具高通量及高重现性。2003年,Boland教授团队^[26]首次提出了含细胞的生物3D打印概念。随后20年内,喷墨式、挤出式、光固化式、堆积式等3D打印技术被成功研发,并广泛应用于生物学领域。目前,生物3D打印模型除了能够模拟所有的健康器官组织,例如心脏、肝脏、肺泡、肾脏、皮肤、肌肉、神经导管、骨骼等^[27-29];也常被应用于具有异质性微环境的疾病研究,例如肿瘤-免疫微环境研究等^[30-31],为目前在细胞实验或动物模型中难以建模的场景提供了一个潜在的解决方案。同时,细胞外基质对细胞表型、组织功能性具有重要的调控作用,而生物3D打印是最能够精确调控细胞外基质属性的核心技术。

生物3D打印技术的核心包括打印技术路线、生物墨水材料以及细胞的选择。目前主流的打印技术路线包括喷墨式、挤出式、光固化式^[32]。喷墨式3D打印将生物材料和细胞以生物墨水的形式喷射到接收面,具备高度的打印灵活性,但在复杂性和分辨率上有一定局限性。挤出式3D打印通过机械挤压实现生物材料

和细胞的堆叠,可实现高度的结构复杂性,但打印速度和精度有限,并且其剪切力(shear force)可能影响细胞存活率。投影式光固化3D打印则是利用数字光处理(digital light processing)技术逐层固化生物材料和细胞,具有微米级的打印分辨率,速度快,打印后细胞存活率高,适用于含细胞的组织模型构建。生物墨水材料包括天然生物材料和合成材料。天然材料具有良好的生物相容性和生物活性,能够诱导相关信号通路,常见的包括胶原蛋白、透明质酸、明胶等。合成材料有可控的化学结构,可以精确实现力学性能、降解性等参数,常见的包括聚己内酯、聚乳酸和聚乙烯醇等。生物墨水材料的选择也会直接影响打印组织的生物活性和功能性,选择依据包括材料的生物相容性、力学性能、降解性、细胞黏附性等。材料的黏度是影响挤出式打印成型的主要因素,材料的光敏性对于光固化打印是必需的。

生物3D打印能有效控制多种细胞的空间分布和基质属性,如材料的硬度,从而帮助组织更好地实现功能,为药物筛选和评估提供更真实的模型。以3D打印的肝脏模型为例,将iPSCs诱导分化的肝脏细胞和血管相关细胞(如内皮细胞和脂肪源干细胞)共同打印,可模拟真实的肝小叶与血管结构。结果表明,这种打印方式能显著提升肝特异性基因的表达和白蛋白生成能力,进而更准确地进行药物毒性筛选和评估^[32]。另一项研究制作了含有力学测试柱的3D打印心肌模型。结构有序的心肌细胞打印后能形成一个同步收缩的整体,而无序打印的心肌细胞则表现出独立无规则收缩。该结果进一步证明3D打印仿生组织模型的高功能性及其在评估药物心脏毒性中的应用价值^[33]。除此之外,生物3D打印在疾病模型的构建中也得到广泛应用。例如在构建脑胶质瘤模型的研究中,采用4种细胞和2种生物材料进行3D打印制作出的脑组织包围肿瘤的3D模型,能准确评估临床用药和靶向药物的治疗效果,还可用于观察肿瘤的侵袭性和筛选抗肿瘤新靶点^[29]。综上所述,生物3D打印技术为人工器官制造、疾病研究、药物筛选提供了有效的体外模型,在药物评估中,其应用主要体现在两个方面:一是通过精细控制细胞和基质的组合,实现高度仿生的组织模型,提供准确的药物筛选和评估平台;二是利用3D打印构建特定疾病模型,评估药物的疗效和毒性。

生物3D打印模型在模拟复杂的组织结构、大尺寸组织方面具有优势,但仍需要突破许多技术难点。例如,工程化的组装过程无法模拟组织器官在体内特定

生理环境和生长因子作用下的天然生长过程, 3D打印所构建的血管结构与体内复杂的多级血管网络仍有差异, 体外模型缺乏体内代谢过程等问题。

1.5 计算机模型

计算机建模结合计算机科学技术可以模拟药物在生物体中的变化。例如通过应用解剖学、生理学等理论构建数学模型, 可以预测化学物质在人体中的吸收、代谢过程。计算机建模的主要类型是基于生理学的药代动力学 (physiologically-based pharmacokinetic, PBPK) 模型, 主要模拟内容涵盖药物给药途径及相关的释放速率、药物在肠道 (吸收)、肝脏 (代谢)、血浆及身体其他系统分布等6个部分, 把各系统分为药物富集区和非富集区的组织和器官, 这些部分相互之间由循环系统连接^[34-36]。在构建完成初始模型之后, 从现有的药代动力学数据库中, 将与生物个体有关的关键参数提取并带入至模型中进行校准, 再根据疾病所带来的生理变化进行修正, 并对修正后的模型再次基于现有的针对该疾病的药代动力学数据库进行参数修正, 针对某种疾病的PBPK模型即建立完成, 可以为日后的诊断及治疗提供快捷高效的指导。

PBPK作为一种建模工具, 能够揭示生物体内的生理学和药代动力学机制。20世纪70年代, PBPK模型被引入药理学研究; 到90年代时, FDA开始认可PBPK模型的有效性, 该模型被用于研究外用视黄酸抗皱纹霜的可能致畸作用; 此后, PBPK模型更广泛地被应用于新药研发、药理研究、药物剂量调整、药物相互作用预测以及风险评估等多个领域^[37-40]。例如, 根据孕妇的生理和代谢变化, 通过构建肠道、肝脏、血液循环及胎盘胎儿区块的PBPK模型, 能预测孕妇在孕期不同阶段的最佳药物摄取量, 提高药物治疗效果^[41]。另外, 还可构建局部的PBPK模型, 如根据药物的油水分离系数和在皮肤不同层的扩散系数为关键参数, 建立PBPK的皮肤模型, 以研究药物透皮给药过程即药物从角质层渗透至皮肤深层的过程^[42-43]。

计算机模型经济高效, 可大幅节省人力成本, 且不受时间和空间限制, 可以加速个性化治疗方案的制定, 从而在无实验条件下, 能快速评估药物使用剂量、治疗周期、潜在不良反应和安全性。然而, 建立可靠的计算机模型需要依靠充分的前期实验数据, 分析找出关键机制和参数进行初期校准。因此, 监管机构、工业界和学术界需共同推进计算机模型的建立, 并利用实验和临床数据来校准模型, 以加快其在医药领域的应用。

1.6 体外建模技术间的交叉应用

类器官虽能自发自组装生成精确组织结构, 但体积增大后营养扩散不足可能导致内部细胞坏死^[44]。器官芯片则以其精确模拟人体组织/器官生理特性的优势, 为环境的可控提供了可能。两者结合不仅可以促进营养和气体交换^[45], 预防核心细胞死亡, 同时以受控方式工程化类器官, 保持其关键结构和生理特性^[46], 而且可以增强3D组织生成的时空控制, 进一步提高高通量分析的能力^[47-48]。最新的毫米级灌注类器官芯片系统的构建研究^[49], 为该领域带来了新的突破, 展示了构建具有更高生理相关性3D模型的新方法。以上两种3D培养方法结合3D打印技术, 可以在模拟器官组织成分的基础上, 进一步模拟组织和器官的微观形态结构, 例如血管网络等生理结构^[50]。这不仅提高了模型的功能性, 使其更加接近真实的体内环境, 还能够实现更快的设计迭代、更低的成本和更短的周转时间^[51]。此外, 计算机模型的建立基于大量实验数据, 相较于动物实验周期较长, 各种体外模型的应用可以提供海量的数据支持, 同时又可以用于验证计算机模型的预测结果, 为模型的优化提供反馈。

2 疾病动物模型的发展和机遇

2.1 实验动物和疾病动物模型的新发展

在生命探索和医药学研究中, 人类健康和福利研究都离不开应用实验动物。实验动物作为人类的“替身”, 为探索生物医学和减轻人类痛苦做出了杰出贡献。在生物医药领域中, 常用的实验动物种类包括: 哺乳纲啮齿目的小鼠、大鼠、豚鼠、仓鼠等, 兔形目的家兔, 食肉目的猫、犬, 有蹄目的猪, 灵长目的恒河猴、绒猴、食蟹猴, 以及硬骨鱼纲鲤形目的斑马鱼等30余种。实验动物的需求量很大程度上依赖于生物医药产业的整体规模。随着近年来我国生物医药研发市场规模迅速扩大, 实验动物的整体发展规模也在飞速增长。除了小鼠、大鼠等为人所熟知的实验动物种类需求量逐年递增之外, 另一些新兴的实验动物种类, 如实验用猪和非人灵长类动物的需求量也出现了跨越式增长。从国内公布的数据来看, 实验用猪的年用量增长率在2014年仅为1%, 而在2015年达到了17.5%; 实验用猴的年用量增长率在2014年约25%, 在2015年则高达41%^[52]。

猪具有与人类相似的器官尺寸、功能和免疫系统组成, 因此在临床研究转化和应用方面比啮齿类动物模型更具有优势。与灵长类动物和其他农用动物相比,

猪具有生育时间短、产仔多、饲养成本较低和基因组易于编辑等优点。近年来,猪已成为人类异种器官移植的首选实验动物^[53],并在心血管,神经系统疾病建模^[54]方面得到了广泛应用。

非人灵长类在亲缘关系上和人类最接近,其DNA序列与人类的有75.0%~98.5%的同源性^[55],显示了许多和人类相似的生物学和行为学特征,因此成为临床前试验的首选。尤其是在宿主特异性的传染病(如新冠病毒感染、艾滋病等)、神经系统退行性病变等疾病建模上具有其他种属动物不可取代的优势。近年来随着创新药物、疫苗的临床前试验量高速增长,我国对实验用猴的需求量也激增,这有效促进了非人灵长类实验动物的研究和利用。新型冠状病毒感染疫情暴发后,我国于世界首次公开报道SARS-CoV-2灭活疫苗应用在恒河猴中是安全有效的^[56]。中国科学院神经科学研究所团队建立了高效的试管猴构建技术和基于精巢移植的精子加速成熟技术,领先于国际攻克了非人灵长类动物克隆的难题。同时,该团队还成功构建了早发癫痫性脑病食蟹猴模型,该模型可有效模拟人类癫痫的临床特征,为后续的疾病机制研究、干预手段探索、药物测试等提供了新工具^[57]。

人类在药物研发、生产过程中建立了大量可用于新药筛选的各类疾病动物模型。为了提高疾病动物模型对人体反应的预测性,目前在肿瘤研究领域运用越来越多的是人源肿瘤异种移植模型(patient-derived xenograft model, PDX)。PDX模型是将来源于患者的肿瘤组织植入免疫缺陷小鼠体内建立的移植瘤模型,已经成为评估药物疗效和药物敏感性的有力工具,相关试验被称为PDX临床试验^[58]。PDX解决了患者和动物肿瘤组织之间在生物学特性上的差别性,精准地代表了不同癌症的生物学异质性,再现了肿瘤微环境^[59],在推动肿瘤个性化治疗、药物筛选和临床前疗效预测方面具有重大的临床意义,被称为肿瘤患者试药的“完美替身”。PDX模型对于评估抗癌疗法至关重要,研究表明不同癌症的PDX模型对不同药物的反应率与临床结果相关^[60]。这些优点也促使研究机构和制药公司相继开发PDX库,例如:诺华生物医学研究所已推出了PDX库用于开发抗癌药物的临床前研究^[61];欧洲的EurOPDX联盟已经储存了超过1 500个样本的PDX模型^[62];美国国立肿瘤研究所(National Cancer Institute)也在开发全国性的患者衍生模型(patient-derived models, PDMs)储存库,其中也包括PDX模型^[59]。

2.2 体外模型和实验动物之间的交叉应用

动物模型所具备的生物复杂性,尤其是生物代谢过程、血管网络、神经网络等,目前仍较难在体外模型中完全重现。体外模型和动物模型之间的交叉应用在未来相当长的一段时间内将会是两者取长补短、相互完善的过程。

药物筛选初期,在人源化的体外模型的基础上进行高通量药物筛选和初步评估,选出的药物再通过动物模型进行验证,从而提高药物研发的效率和准确度,减少动物用量。在药物验证阶段,动物模型也可以和人源化的体外模型相结合,提高药物筛选的效率。如,目前已有研究建立了类器官移植瘤小鼠模型(patient-derived organoids-based xenografts, PDOXs),是一种把肿瘤类器官移植到免疫缺陷鼠而建立的人源异种移植模型,它综合了类器官能够快速制备以及动物模型可以与体内微环境相互作用的双方优势。目前已有报道显示,PDOXs能够更快更高效地制备人源化肿瘤模型,且能有效地形成体内转移,移植到动物体内的肿瘤类器官显示出和人体亲代肿瘤类似的分子特征,再现患者对抗癌药物的反应,正在成为新一代精准医疗个性化药物筛选的重要平台^[63-64]。

体外模型的药物测试结果能否有效预测体内药物动力学过程是一大核心技术挑战,这依赖于体外模型要根据动物模型的数据不断优化校正参数的过程,从而进一步提高模型的预测精确度。一方面,利用动物实验数据来完善体外模型的建模条件,如调整生物芯片中的微控流速等,使其到达高度仿“真”的目的^[65];另一方面,大规模比对动物实验和体外模型的结果,寻找并矫正关键影响参数,如肿瘤体内生长曲线、药物理化特性等,完善计算机模拟模型^[66-67],使其更准确地根据体外结果预测药物在动物和人体内的有效浓度和治疗效果。

3 结语

尽管非动物实验模型的发展为药物研发带来了新的可能性,但目前动物模型在评价药物安全性和有效性方面仍具有无法替代的价值。一方面,动物模型能够提供更全面的生理环境,包括器官之间的交互作用、血液循环、系统代谢和免疫反应等;另一方面,动物模型在药物代谢、药效学、药物毒性等方面能提供全面的生理数据。这些因素对评估新药至关重要,因为研究人员可以根据这些因素预测药物在人体中的整体效应和可能的毒性、不良反应。虽然新的非动物实验

模型在预测药物效果、不良反应和毒性等方面已经取得了显著的进步,但在模拟复杂的生物系统方面仍然面临挑战。可以预见,在未来一段时间里,动物模型和非动物实验模型在药物研发过程中仍是互补并非替代关系。

动物模型作为人类替代品,避免了在人体上进行有危险性的不人道的生物安全测试,但它的使用并不会缩短新药研发过程。提高新药临床试验成功率的前提是准确理解疾病关键的病因病理机制和药物作用机制,在此基础上科学地发展和应用疾病动物模型。传统疾病动物模型一方面要和体外建模方式融合发展,充分认识并利用非动物实验模型对前期药物筛选的便捷性和高效性,结合计算机模拟等新技术预测药物在体内的分布和治疗效果,筛选出最适合的药物并在动物模型上进行验证。这可以最大程度上减少动物的使用,实现科研需要和人道主义的平衡。另一方面,根据应用需要研究制备人源化动物模型、人源性细胞或组织移植模型(PDX、PDOX),以提高动物模型的临床预测准确性。最后,动物建模应向更科学化、系统化的方向发展,以选择和临床最相关、具有良好的人体效果预测性的动物模型为目的,对多种疾病动物模型进行系统性评估和分析。对于病因病理机制尚未完全了解的疾病,应根据临床代表性的病理特征和生物标志物选择更细化的动物模型进行临床前试验,以提高临床试验成功率。总之,各种疾病模型的优势需要得到最大化发展,使其对人类生命健康和社会进步做出积极的贡献。

[作者贡献 Author Contribution]

万颖寒参与写作方案策划、疾病动物模型部分的初稿写作,以及全文修改;

顾也欣参与器官芯片部分的写作;

袁雨浓参与计算机模型部分的写作;

汤恣参与写作方案策划,以及生物3D打印模型、体外建模技术间的交叉应用、引言和结语部分的初稿写作,并负责全文修改和定稿;

鲁立参与写作方案策划,以及疾病动物模型、类器官、体外模型和实验动物之间的交叉应用、引言和结语部分的初稿写作,并负责全文修改和定稿。

[利益声明 Declaration of Interest]

所有作者均声明本文不存在利益冲突。

[参考文献 References]

[1] PAUL R. S. 5002, 117th Congress, FDA Modernization Act 2.0 [A/OL]. 2022. [http://www.congress.gov/117/bills/s5002/BILLS-](http://www.congress.gov/117/bills/s5002/BILLS-117s5002cps.pdf)

117s5002cps.pdf.

- [2] WARING M J, ARROWSMITH J, LEACH A R, et al. An analysis of the attrition of drug candidates from four major pharmaceutical companies[J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2015, 14(7):475-486. DOI: 10.1038/nrd4609.
- [3] BLAY V, TOLANI B, HO S P, et al. High-Throughput Screening: today's biochemical and cell-based approaches[J]. *Drug Discov Today*, 2020, 25(10): 1807-1821. DOI: 10.1016/j.drudis.2020.07.024.
- [4] BEN-DAVID U, SIRANOSIAN B, HA G, et al. Genetic and transcriptional evolution alters cancer cell line drug response [J]. *Nature*, 2018, 560(7718):325-330. DOI: 10.1038/s41586-018-0409-3.
- [5] LIU X, ZHENG W, JIANG X. Cell-based assays on microfluidics for drug screening[J]. *ACS Sens*, 2019, 4(6): 1465-1475. DOI: 10.1021/acssensors.9b00479.
- [6] SATO T, VRIES R G, SNIPPERT H J, et al. Single Lgr5 stem cells build crypt-villus structures *in vitro* without a mesenchymal niche[J]. *Nature*, 2009, 459(7244):262-265. DOI: 10.1038/nature07935.
- [7] TAGUCHI A, NISHINAKAMURA R. Higher-order kidney organogenesis from pluripotent stem cells[J]. *Cell Stem Cell*, 2017, 21(6):730-746.e6. DOI: 10.1016/j.stem.2017.10.011.
- [8] WAN Y S, SHANG J, GRAHAM R, et al. Receptor recognition by the novel coronavirus from Wuhan: an analysis based on decade-long structural studies of SARS coronavirus[J]. *J Virol*, 2020, 94(7): e00127-e00120. DOI: 10.1128/JVI.00127-20.
- [9] SALAHUDEEN A A, CHOI S S, RUSTAGI A, et al. Progenitor identification and SARS-CoV-2 infection in human distal lung organoids[J]. *Nature*, 2020, 588(7839): 670-675. DOI: 10.1038/s41586-020-3014-1.
- [10] HAN Y L, DUAN X H, YANG L L, et al. Identification of SARS-CoV-2 inhibitors using lung and colonic organoids[J]. *Nature*, 2021, 589(7841):270-275. DOI: 10.1038/s41586-020-2901-9.
- [11] JGAMADZE D, LIM J T, ZHANG Z J, et al. Structural and functional integration of human forebrain organoids with the injured adult rat visual system[J]. *Cell Stem Cell*, 2023, 30(2): 137-152.e7. DOI: 10.1016/j.stem.2023.01.004.
- [12] VLACHOGIANNIS G, HEDAYAT S, VATSIOU A, et al. Patient-derived organoids model treatment response of metastatic gastrointestinal cancers[J]. *Science*, 2018, 359(6378):920-926. DOI: 10.1126/science.aao2774.
- [13] WEEBER F, VAN DE WETERING M, HOOGSTRAAT M, et al. Preserved genetic diversity in organoids cultured from biopsies of human colorectal cancer metastases[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2015, 112(43): 13308-13311. DOI: 10.1073/pnas.1516689112.
- [14] ZHOU C, WU Y, WANG Z, et al. Standardization of organoid culture in cancer research[J]. *Cancer Med*, 2023, 12(13):14375-14386. DOI: 10.1002/cam4.5943.
- [15] INGBER D E. Reverse engineering human pathophysiology with organs-on-chips[J]. *Cell*, 2016, 164(6): 1105-1109. DOI: 10.1016/j.cell.2016.02.049.
- [16] HARDWICK R N, BETTS C J, WHITENOUR J, et al. Drug-induced skin toxicity: gaps in preclinical testing cascade as

- opportunities for complex *in vitro* models and assays[J]. Lab Chip, 2020, 20(2):199-214. DOI: 10.1039/c9lc00519f.
- [17] AINSLIE G R, DAVIS M, EWART L, et al. Microphysiological lung models to evaluate the safety of new pharmaceutical modalities: a biopharmaceutical perspective[J]. Lab Chip, 2019, 19(19):3152-3161. DOI: 10.1039/c9lc00492k.
 - [18] PETERS M F, CHOY A L, PIN C, et al. Developing *in vitro* assays to transform gastrointestinal safety assessment: potential for microphysiological systems[J]. Lab Chip, 2020, 20(7):1177-1190. DOI: 10.1039/c9lc01107b.
 - [19] PHILLIPS J A, GRANDHI T S P, DAVIS M, et al. A pharmaceutical industry perspective on microphysiological kidney systems for evaluation of safety for new therapies[J]. Lab Chip, 2020, 20(3):468-476. DOI: 10.1039/c9lc00925f.
 - [20] BAUDY A R, OTIENO M A, HEWITT P, et al. Liver microphysiological systems development guidelines for safety risk assessment in the pharmaceutical industry[J]. Lab Chip, 2020, 20(2):215-225. DOI: 10.1039/c9lc00768g.
 - [21] CHEN Z, TANG M, HUANG D, et al. Real-time observation of leukocyte-endothelium interactions in tissue-engineered blood vessel[J]. Lab Chip, 2018, 18(14):2047-2054. DOI: 10.1039/C8LC00202A.
 - [22] NOVAK R, INGRAM M, MARQUEZ S, et al. Robotic fluidic coupling and interrogation of multiple vascularized organ chips[J]. Nat Biomed Eng, 2020, 4(4):407-420. DOI: 10.1038/s41551-019-0497-x.
 - [23] MURPHY S V, DE COPPI P, ATALA A. Opportunities and challenges of translational 3D bioprinting[J]. Nat Biomed Eng, 2020, 4(4):370-380. DOI: 10.1038/s41551-019-0471-7.
 - [24] LAWLOR K T, VANSLAMBROUCK J M, HIGGINS J W, et al. Cellular extrusion bioprinting improves kidney organoid reproducibility and conformation[J]. Nat Mater, 2021, 20(2):260-271. DOI: 10.1038/s41563-020-00853-9.
 - [25] GRIGORYAN B, PAULSEN S J, CORBETT D C, et al. Multivascular networks and functional intravascular topologies within biocompatible hydrogels[J]. Science, 2019, 364(6439):458-464. DOI: 10.1126/science.aav9750.
 - [26] MIRONOV V, BOLAND T, TRUSK T, et al. Organ printing: computer-aided jet-based 3D tissue engineering[J]. Trends Biotechnol, 2003, 21(4): 157-161. DOI: 10.1016/s0167-7799(03)00033-7.
 - [27] YOU S T, XIANG Y, HWANG H H, et al. High cell density and high-resolution 3D bioprinting for fabricating vascularized tissues[J]. Sci Adv, 2023, 9(8): eade7923. DOI: 10.1126/sciadv.ade7923.
 - [28] LEE A, HUDSON A R, SHIWARSKI D J, et al. 3D bioprinting of collagen to rebuild components of the human heart[J]. Science, 2019, 365(6452): 482-487. DOI: 10.1126/science.aav9051.
 - [29] TANG M, XIE Q, GIMPLE R C, et al. Three-dimensional bioprinted glioblastoma microenvironments model cellular dependencies and immune interactions[J]. Cell Res, 2020, 30(10):833-853. DOI: 10.1038/s41422-020-0338-1.
 - [30] TANG M, TIWARI S K, AGRAWAL K, et al. Rapid 3D bioprinting of glioblastoma model mimicking native biophysical heterogeneity[J]. Small, 2021, 17(15): e2006050. DOI: 10.1002/smll.202006050.
 - [31] KOFFLER J, ZHU W, QU X, et al. Biomimetic 3D-printed scaffolds for spinal cord injury repair[J]. Nat Med, 2019, 25(2): 263-269. DOI: 10.1038/s41591-018-0296-z.
 - [32] MA X, QU X, ZHU W, et al. Deterministically patterned biomimetic human iPSC-derived hepatic model via rapid 3D bioprinting[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2016, 113(8): 2206-2011. DOI: 10.1073/pnas.1524510113.
 - [33] LIU J, MILLER K, MA X, et al. Direct 3D bioprinting of cardiac micro-tissues mimicking native myocardium[J]. Biomaterials, 2020, 256:120204. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2020.120204.
 - [34] MA X Y, LIU J, ZHU W, et al. 3D bioprinting of functional tissue models for personalized drug screening and *in vitro* disease modeling[J]. Adv Drug Deliv Rev, 2018, 132:235-251. DOI: 10.1016/j.addr.2018.06.011.
 - [35] TSAKALOZOU E, ALAM K, BABISKIN A, et al. Physiologically-based pharmacokinetic modeling to support determination of bioequivalence for dermatological drug products: scientific and regulatory considerations[J]. Clin Pharma And Therapeutics, 2022, 111(5):1036-1049. DOI: 10.1002/cpt.2356.
 - [36] MURATA Y, NEUHOFF S, ROSTAMI-HODJEGAN A, et al. *In vitro* to *in vivo* extrapolation linked to physiologically based pharmacokinetic models for assessing the brain drug disposition[J]. AAPS J, 2022, 24(1):28. DOI: 10.1208/s12248-021-00675-w.
 - [37] MCALLISTER M, FLANAGAN T, BOON K, et al. Developing clinically relevant dissolution specifications for oral drug products-industrial and regulatory perspectives[J]. Pharmaceutics, 2019, 12(1): 19. DOI: 10.3390/pharmaceutics12010019.
 - [38] HEIMBACH T, SUAREZ-SHARP S, KAKHI M, et al. Dissolution and translational modeling strategies toward establishing an *in vitro*-*In vivo* link—a workshop summary report[J]. Aaps J, 2019, 21(2):29. DOI: 10.1208/s12248-019-0298-x.
 - [39] ZHAO L, KIM M J, ZHANG L, et al. Generating model integrated evidence for generic drug development and assessment[J]. Clin Pharmacol Ther, 2019, 105(2): 338-349. DOI: 10.1002/cpt.1282.
 - [40] SAGER J E, YU J J, RAGUENEAU-MAJLESSI I, et al. Physiologically based pharmacokinetic (PBPK) modeling and simulation approaches: a systematic review of published models, applications, and model verification[J]. Drug Metab Dispos, 2015, 43(11):1823-1837. DOI: 10.1124/dmd.115.065920.
 - [41] GEORGE B, LUMEN A N, NGUYEN C, et al. Application of physiologically based pharmacokinetic modeling for sertraline dosing recommendations in pregnancy[J]. NPJ Syst Biol Appl, 2020, 6(1):36. DOI: 10.1038/s41540-020-00157-3.
 - [42] CHEN T, LIAN G P, KATTOU P. In silico modelling of transdermal and systemic kinetics of topically applied solutes: model development and initial validation for transdermal nicotine[J]. Pharm Res, 2016, 33(7): 1602-1614. DOI: 10.1007/s11095-016-1900-x.
 - [43] TSAKOVSKA I, PAJEVA I, AL SHARIF M, et al. Quantitative

- structure-skin permeability relationships[J]. *Toxicology*, 2017, 387:27-42. DOI: 10.1016/j.tox.2017.06.008.
- [44] WÖRSDÖRFER P, ERGÜN S. The impact of oxygen availability and multilineage communication on organoid maturation[J]. *Antioxid Redox Signal*, 2021, 35(3): 217-233. DOI: 10.1089/ars.2020.8195.
- [45] GREBENYUK S, RANGA A. Engineering organoid vascularization[J]. *Front Bioeng Biotechnol*, 2019, 7:39. DOI: 10.3389/fbioe.2019.00039.
- [46] QIAN X, NGUYEN H N, SONG M M, et al. Brain-region-specific organoids using mini-bioreactors for modeling ZIKV exposure[J]. *Cell*, 2016, 165(5): 1238-1254. DOI: 10.1016/j.cell.2016.04.032.
- [47] YU F, HUNZIKER W, CHOUDHURY D. Engineering microfluidic organoid-on-a-chip platforms[J]. *Micromachines (Basel)*, 2019, 10(3): E165. DOI: 10.3390/mi10030165.
- [48] ZHANG Y S, ALEMAN J, SHIN S R, et al. Multisensor-integrated organs-on-chips platform for automated and continual *in situ* monitoring of organoid behaviors[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2017, 114(12): E2293-E2302. DOI: 10.1073/pnas.1612906114.
- [49] RAMME A P, KOENIG L, HASENBERG T, et al. Autologous induced pluripotent stem cell-derived four-organ-chip[J]. *Future Sci OA*, 2019, 5(8): FSO413. DOI: 10.2144/fsoa-2019-0065.
- [50] KOLESKY D B, HOMAN K A, SKYLAR-SCOTT M A, et al. Three-dimensional bioprinting of thick vascularized tissues[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2016, 113(12): 3179-3184. DOI: 10.1073/pnas.1521342113.
- [51] ROGERS C I, QADERI K, WOOLLEY A T, et al. 3D printed microfluidic devices with integrated valves[J]. *Biomicrofluidics*, 2015, 9(1):016501. DOI: 10.1063/1.4905840.
- [52] 国家科技基础条件平台中心. 中国实验动物资源调查与发展趋势[M]. 北京: 科学出版社, 2017.
National Platform for Basic Conditions of Science and Technology. Survey and Development Trend of Laboratory Animal Resources in China[M]. Beijing: Science Press, 2017.
- [53] MONTGOMERY R A, STERN J M, LONZE B E, et al. Results of two cases of pig-to-human kidney xenotransplantation[J]. *N Engl J Med*, 2022, 386(20): 1889-1898. DOI: 10.1056/nejmoa.2120238.
- [54] YAN S, TU Z C, LIU Z M, et al. A huntingtin knockin pig model recapitulates features of selective neurodegeneration in Huntington's disease[J]. *Cell*, 2018, 173(4):989-1002.e13. DOI: 10.1016/j.cell.2018.03.005.
- [55] 国家科技基础条件平台中心. 国家生物种质与实验材料资源发展报告 2017-2018[M]. 北京: 科学出版社, 2020.
National Platform for Basic Conditions of Science and Technology. National report on the development of biological germplasm and experimental material resources 2017-2018 [M]. Beijing: Science Press, 2020.
- [56] GAO Q, BAO L, MAO H, et al. Development of an inactivated vaccine candidate for SARS-CoV-2[J]. *Science*, 2020, 369(6499):77-81. DOI: 10.1126/science.abc1932.
- [57] LU Z, HE S, JIANG J, et al. Base-edited cynomolgus monkeys mimic core symptoms of STXBP1 encephalopathy[J]. *Mol Ther*, 2022, 30(6):2163-2175. DOI: 10.1016/j.ymthe.2022.03.001.
- [58] BYRNE A T, ALFÉREZ D G, AMANT F, et al. Interrogating open issues in cancer precision medicine with patient-derived xenografts[J]. *Nat Rev Cancer*, 2017, 17(4): 254-268. DOI: 10.1038/nrc.2016.140.
- [59] ABDOLAH S, GHAZVINIAN Z, MUHAMMADNEJAD S, et al. Patient-derived xenograft (PDX) models, applications and challenges in cancer research[J]. *J Transl Med*, 2022, 20(1): 206. DOI: 10.1186/s12967-022-03405-8.
- [60] OH D Y, BANG Y J. HER2-targeted therapies - a role beyond breast cancer[J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2020, 17(1):33-48. DOI: 10.1038/s41571-019-0268-3.
- [61] CORSO S, CARGNELUTTI M, DURANDO S, et al. Rituximab treatment prevents lymphoma onset in gastric cancer patient-derived xenografts[J]. *Neoplasia*, 2018, 20(5):443-455. DOI: 10.1016/j.neo.2018.02.003.
- [62] LIU Y W, YIN T, FENG Y B, et al. Mammalian models of chemically induced primary malignancies exploitable for imaging-based preclinical theragnostic research[J]. *Quant Imaging Med Surg*, 2015, 5(5): 708-729. DOI: 10.3978/j.issn.2223-4292.2015.06.01.
- [63] CHEN C C, LI H W, WANG Y L, et al. Patient-derived tumor organoids as a platform of precision treatment for malignant brain tumors[J]. *Sci Rep*, 2022, 12:16399. DOI: 10.1038/s41598-022-20487-y.
- [64] JIAN M, REN L, HE G D, et al. A novel patient-derived organoids-based xenografts model for preclinical drug response testing in patients with colorectal liver metastases [J]. *J Transl Med*, 2020, 18(1):234. DOI: 10.1186/s12967-020-02407-8.
- [65] ROSS E J, GORDON E R, SOTHERS H, et al. Three dimensional modeling of biologically relevant fluid shear stress in human renal tubule cells mimics *in vivo* transcriptional profiles[J]. *Sci Rep*, 2021, 11(1): 14053. DOI: 10.1038/s41598-021-93570-5.
- [66] BOUHADDOU M, YU L J, LUNARDI S, et al. Predicting *in vivo* efficacy from *in vitro* data: quantitative systems pharmacology modeling for an epigenetic modifier drug in cancer[J]. *Clin Transl Sci*, 2020, 13(2):419-429. DOI: 10.1111/cts.12727.
- [67] DIEGMILLER R, SALPHATI L, ALICKE B, et al. Growth-rate model predicts *in vivo* tumor response from *in vitro* data[J]. *CPT Pharmacom & Syst Pharma*, 2022, 11(9): 1183-1193. DOI: 10.1002/psp4.12836.
- (收稿日期: 2023-06-20 修回日期: 2023-08-28)
(本文编辑: 张俊彦, 富群华, 丁宇菁, 陆佳雯)

[引用本文]

万颖寒, 顾也欣, 袁雨浓, 等. FDA 现代化法案 2.0 给疾病动物模型发展带来的启示和思考[J]. 实验动物与比较医学, 2023, 43(5): 472-481. DOI: 10.12300/j.issn.1674-5817.2023.083.

WAN Y H, GU Y X, YUAN Y N et al. Implications on the development of animal disease models from *FDA Modernization Act 2.0*[J]. *Lab Anim Comp Med*, 2023, 43(5): 472-481. DOI: 10.12300/j.issn.1674-5817.2023.083.