

张忠海,孙惠,苏曦晨,等. 猪肠道类器官的培养技术及其进展 [J]. 中国实验动物学报, 2025, 33(4): 607-615.

ZHANG Z H, SUN H, SU X C, et al. Cultivation techniques and research progress of porcine intestinal organoids [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2025, 33(4): 607-615.

Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2025.04.014

猪肠道类器官的培养技术及其进展

张忠海¹, 孙惠¹, 苏曦晨^{2,3*}, 崔立^{2,3}

(1. 上海市浦东新区畜牧水产技术推广中心, 上海 201299; 2. 上海交通大学农业与生物学院动物科学系, 上海 200240; 3. 上海交通大学上海市兽医生物技术重点实验室, 上海 200240)

【摘要】 猪肠道类器官是一种由猪干细胞或者含有干细胞的猪肠道隐窝在体外增殖分化、形成能够自我更新并分化成和体内组织结构相似的 3D 培养物。基于猪和人在结构和生理上高度的相似性,猪肠道类器官不仅可以满足农业生产和生态环境研究的需求,还可以作为人的体外模型进行药物筛选和毒理研究。相比于其他体外模型,猪肠道类器官拥有和体内组织相似,有稳定表型和遗传特性等优势。猪肠道类器官在模拟宿主与微生物相互作用、药物筛选和营养发育研究中展现出巨大潜力,但其构建仍缺少固定流程,这会影响实验重复性。本文将回顾猪肠道类器官的培养,顶端绒毛暴露方法、微生物和宿主之间的相互作用以及目前所面临的挑战。

【关键词】 猪;肠道;类器官

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 1005-4847 (2025) 04-0607-09

Cultivation techniques and research progress of porcine intestinal organoids

ZHANG Zhonghai¹, SUN Hui¹, SU Xichen^{2,3*}, CUI Li^{2,3}

(1. Shanghai Pudong New Area Livestock and Aquaculture Products Technology Promotion Center, Shanghai 201299, China; 2. Department of Animal Science, School of Agriculture and Biology, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200240, China; 3. Shanghai Key Laboratory of Veterinary Biotechnology, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200240, China)

Corresponding author: SU Xichen. E-mail: wenkedaxuezh@sjtu.edu.cn

【Abstract】 Porcine intestinal organoids are 3D cultures derived from porcine stem cells or porcine intestinal crypts containing stem cells, which can self-renew and differentiate into tissues similar to those *in vivo*. Due to the high structural and physiological similarity between pigs and humans, porcine intestinal organoids can not only meet the needs of agricultural production and ecological environment research, but also serve as an *in vitro* model for human drug screening and toxicology studies. Compared with other *in vitro* models, porcine intestinal organoids have the advantages of being similar to *in vivo* tissues, stable phenotypes and genetic properties. Porcine intestinal organoids show great potential in simulating host-microbial interactions, drug screening and nutritional development studies, but their construction still lacks a fixed process, which affects experimental repeatability. In this review, we will review

【基金项目】上海市科委科技创新项目(实验动物专项)(23141900100,21140901400)。

Funded by Science and Technology Innovation Project of Shanghai Municipal Science and Technology Commission (Experimental Animal Project) (23141900100, 21140901400).

【作者简介】张忠海,男,硕士,兽医师,研究方向:动物疾病诊疗。Email:zhonghaiz@126.com

【通信作者】苏曦晨,男,硕士,研究助理,研究方向:动物疫苗研发。Email:wenkedaxuezh@sjtu.edu.cn

culture of porcine intestinal organoids, the exposure method of apical villi, the interactions between microorganisms and hosts, and the current challenges.

[Keywords] swine; intestine; organoid

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

猪肠道类器官 (porcine intestinal organoids, PIOs) 的出现为人类医学、兽医医学和生物环境等领域的研究提供了一种新的工具。PIOs 是一种猪干细胞或者是含有干细胞的猪肠道隐窝在体外增殖分化形成的 3D 培养物,其组织结构与体内相似。PIOs 呈空心管腔花瓣状,含有潘氏细胞 (paneth cell, PC)、干细胞、杯状细胞和肠上皮细胞等多种细胞,包含绒毛和隐窝等结构,拥有长期的自我更新能力,可稳定低温保存和复苏^[1-2]。长期传代的 PIOs 的转录组仍可以保持稳定,并且 PIOs 比传统的肠道模型猪空肠上皮细胞系 (IPEC-J2) 更接近于人的肠道上皮组织,这会在药物研发过程中具有重要意义^[3]。

肠道内丰富的干细胞使其在构建类器官方面相较于其他组织具有更大的优势。基于肠道功能和结构复杂性,肠道上皮更容易受到来自外界环境的刺激 (如肠道微生物、食物等),因此小肠上皮会进行 3 ~ 5 d 为一周期的自我更新,从而能维持其基本的生物学功能^[4]。小肠需要丰富的干细胞去支持高频率的自我更新,由此可以分离出相对丰富的肠道成体干细胞 (adult stem cell, ASCs) 去构建类器官。

有关动物福利的 3R 原则,即动物实验的替换 (replacement)、减少 (reduction) 和优化 (refinement),已被广泛接受,并被视为动物实验中使用实验动物时的最高伦理标准。近年来,类器官作为一种符合 3R 原则中替换原则的动物模型,能够有效地减少了实验动物的使用,同时能够满足一部分的实验需求。随着社会文明的进步,研究人员就开始意识到动物福利的重要性,希望能够有效地减轻动物实验给实验动物带来的痛苦。

相比于传统 2D 单层培养物,类器官已经有分化成熟的细胞,且具有与体内相似的组织结构,能够更好模拟体内组织器官的生理学和病理学变化^[5-6]。类器官通常是由各种干细胞产生,能够在保持较长时间培养的条件下不发生基因

组的改变。

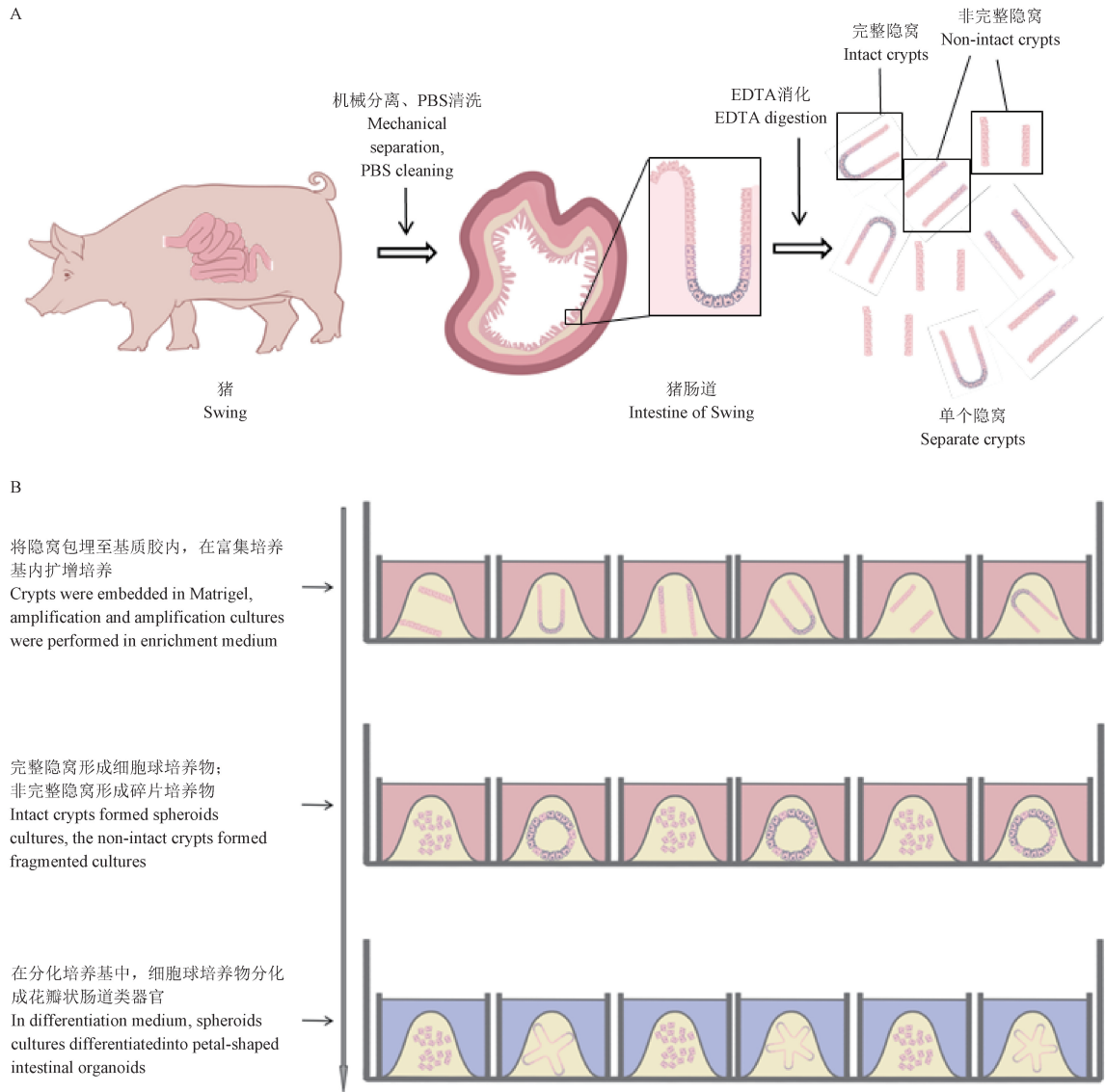
尽管实验动物在肠道内分子机制研究、疾病模型构建及药物筛选等领域仍然占据重要地位,但近年来已有大量研究开始在基因编辑、人类医学、生物制剂开发及肠道营养等领域应用 PIOs。这些迹象表明,PIOs 有潜力在未来逐步替代部分实验动物的使用。本文将回顾 PIOs 的分离培养和具体运用,指出 PIOs 的当前的局限性并阐述已有的优化方案。

1 猪肠道类器官的建立方法进展

目前常见的 PIOs 建立方法是在体外对干细胞进行相关信号通路的调控,以促进其增殖和分化,从而形成细胞球培养物。随后将这些细胞球进一步分化为具有明显组织结构的 3D 培养物。2007 年 BARKER 等^[7]发现了位于肠道隐窝底部的基底柱状细胞 (cylindrical base cell, CBC) 富含亮氨酸的重复序列 G 蛋白偶联受体 5 (leucine-rich repeat-containing G protein-coupled receptor 5, LGR5),这些细胞可以在 60 d 内分化成为所有的肠上皮细胞谱系,这说明 CBC 是小肠和结肠的干细胞。基于这项研究,2009 年 SATO 等^[8]通过在特定的分化培养基中培养小鼠 *Lgr5* 阳性肠干细胞,并成功建立了小鼠肠道类器官。2011 年,该研究团队基于之前建立的小鼠类器官培养基进行特定成分的修改,成功建立了人隐窝来源的肠道类器官^[14]。随后,其他研究人员陆续报道了牛^[2]、猪^[10]、狗^[11]、猫^[12]、鸡^[12]的类器官培养和建立。

1.1 3 种类型的干细胞获得猪肠道类器官的基本流程

目前,研究人员可以通过诱导性多能干细胞 (induced pluripotent stem cells, iPSCs)、ASCs 和胚胎干细胞 (embryonic stem cell, ESCs) 这 3 种干细胞获得肠道类器官。目前报道最多的类器官构建方法大多是 ASCs (如图 1),大致为:首先需要通过机械分离和酶分离相结合的方式获得隐窝



注：a：猪肠道隐窝分离流程；b：猪肠道隐窝体外扩增分化流程。

图1 猪肠道成体干细胞分离和猪肠道类器官培养

Note. a. Porcine intestinal crypt isolation procedure. b. *In vitro* expansion and differentiation process of porcine intestinal crypts.

Figure 1 Isolation of adult stem cells from the Intestine of swing and culture of porcine intestinal organoids

结构,再通过富集培养基形成相应的细胞球培养物,最后在分化培养基上形成具有明显组织结构的类器官。与报道最多的 ASCs 来源的类器官相比,目前利用 iPSCs 和 ESCs 诱导产生的类器官中通常包括下面几个步骤:先将 2D 培养的 iPSCs 传代构建成 3D 细胞球状培养物,再通过相关信号通路诱导分化为胚状体,最后转移到分化培养基上形成对应的类器官^[1,13]。

1.2 含猪肠道成体干细胞隐窝的分离

在 PIOs 的培养前还需要合适的分离肠隐窝组织的方法。隐窝位于肠绒毛之间的凹陷处,底

部是由干细胞和 Paneth 细胞排列组成的“U”形结构。较早用于 PIOs 的隐窝分离方法是:需要用磷酸盐缓冲盐水 (phosphate buffered saline, PBS) 反复洗涤的猪肠道中的微生物,再用 EDTA 处理使其结构松动,最后用移液管反复吹制获得隐窝悬液^[14-15]。随后,也有研究根据需求优化了方法,将含有 EDTA 和二硫苏糖醇的 PBS 孵化组织,反复摇床获得悬浮的肠道组织^[1]。该方法可以减少组织损失,有效地避免了肠道隐窝破碎。

1.3 猪肠道类器官的培养基

目前常用的类器官培养基细胞外基质凝胶

是一种小鼠肉瘤衍生的培养基——Matrigel 是一种凝胶状培养基,它支持细胞附着和存活成长,起到支架和提供营养物质的作用^[15-16]。Matrigel 通过基底膜提供相关信号分子,促进类器官的生长成熟。尽管该培养基源自小鼠,但由于肠道类器官的体外培养并不涉及血管连接和免疫细胞的参与,因此可以根据不同物种的特异性,调整相关信号分子的浓度和配比,用于培养不同物种的肠道类器官。相关研究表明,减少基质凝胶的浓度让培养基变成液态,可以培养出鸡肠道类器官^[17]。LI 等^[18]通过更改了常规 Matrigel 的成分,阻隔了干细胞的 Wnt 和 PGE2 的信号通路,使传统 Matrigel 培养出的细胞球状 3D 培养物分化为具有明显体内组织结构的猪结肠类器官。培养基的成分直接决定了类器官生长命运。目前有研究通过饲养细胞上清短暂维持猪 iPSCs 的无饲养培养状态,然后通过激活剂 A、成纤维细胞生长因子 4 和 Wnt3a 成功诱导猪 iPSCs 形成细胞球 3D 培养物。最后将形成的细胞球 3D 培养物嵌入基质凝胶中,并通过添加各种生长因子让 3D 结构成熟形成肠道类器官^[1]。该类器官可以被猪肠道冠状病毒感染,为后续的治疗和药物评测提供了一个理想的模型。

1.4 猪肠道类器官的信号通路

PIOs 的生长和分化是由不同的信号通路调控的。肠干细胞的自我更新和分化促进了类器官的生长,这个过程受到多种信号通路的调控。不同物种的肠道干细胞生长分化都依赖各种信号分子, Wnt、表皮生长因子 (epidermal growth factor, EGF) 等的信号分子都是通过 PC 来合成分泌^[14,19]。Wnt 信号通路在促进干细胞增殖和自我更新中起着重要作用。抑制 Wnt 通路,会抑制干细胞的增殖和更新,促进细胞的分化成熟^[20-21]。Notch 通路则决定了细胞分化的类型, Wnt 和 Notch 通路共同控制了干细胞的命运^[22]。Notch 通路抑制时导致干细胞向分泌细胞类型分化,若再抑制 Wnt 通路,则会让干细胞分化产生杯状细胞;而当 Wnt 和 Notch 通路都激活时,会保持干细胞的更新和增殖, Wnt 通路抑制, Notch 通路激活时,会让干细胞分化为肠上皮细胞等肠吸收性细胞^[23]。BMP 信号通路可以抑制 β -连环蛋白活性^[24-25]。EGF 则会促进细胞增

殖^[26-27]。因此,调控培养基中这些信号因子的浓度和配比,可以构建出 PIOs 特定的富集培养基和特定的分化培养基^[18]。这些信号因子的研究为类器官的构建奠定了一定的基础。

1.5 细胞球培养物作为培养类器官过程中经历的一个阶段

有研究曾经尝试使用小鼠肠道类器官的无血清商业培养基 IntestiCult 来建立 PIOs,但目前这种方法培养出来的猪肠道 3D 培养物分化程度较低^[28]。也有研究基于人和猪在生理和结构上相似的这一特点,打算利用已经标准化的人类器官培养基来建立 PIOs,但相得到的 3D 培养物分化程度同样也很低,并且没有观察到和体内组织相似的结构^[9]。这些分化程度低的 3D 培养物成为细胞球培养物 (spheroids)。与类器官相比,细胞球培养物没有明显的组织结构,不能模拟体内的生理状况^[29]。在早期的研究中,人们会把细胞球培养物和类器官混为一谈,而如今,细胞球被定义为从干细胞中分离培养获得的细胞团,通常被认为是培养类器官中经历的一个阶段, LI 等^[18]的研究发现,利用人类器官富集培养基培养猪结肠类器官时就会呈现了球状的 3D 培养结构,短期内没有观察到出芽结构,将细胞球培养物放入到特定的分化培养基后,则观察到明显的隐窝结构。

2 猪肠道类器官的运用

2.1 绒毛结构的暴露方法

PIOs 是一种 3D 结构模型,在常见的基质凝胶类器官培养基的培养下,呈现出绒毛朝内、隐窝结构向外突起、肠道内腔被基质胶包裹的花瓣状结构。这种结构限制了病毒、细菌、寄生虫、药物和其他物质进入到类器官腔内。这需要特定的方法将类器官的绒毛结构暴露出来。

在探究肠道中宿主和微生物关系的研究中,最直接的方法是进行微注射,即将微生物注射到类器官腔内。HILL 等^[30]通过薄壁毛细玻璃管,在显微镜下注射大肠杆菌到人的肠道类器官中,可以在体外模拟人肠道和大肠杆菌之间的相互作用。

相比于传统的 2D 培养物,由猪肠道类器官衍生出来的单分子层膜 (organized-derived

monolayers, ODM) 在药物筛选和毒理学研究中更具有优势。ODM 即可以将绒毛结构暴露出来, 又可以保留猪肠道上皮组织结构功能。HOFFMANN 等^[31]通过将 PIOs 植入到渗透过滤支架上, 得到了类器官来源的猪空肠 ODM, 并且探究了该 ODM 的生理转运特性, 发现了 ODM 物质转运过程和体内组织相似。VAN 等^[32]优化了传统的肠道类器官机械破碎和部分酶解离后接种到培养基的 ODM 培养方法, 利用跨膜电阻测定通透性, 控制 ODM 细胞密度, 形成了一套更快速的 ODM 培养方案。BARNETT 等^[33]在前人基础上通过可渗透的 Transwell 插入物和组织培养液处理后的聚苯乙烯板培养 ODM, 并发现不同的细胞接种密度, 培养方式以及培养基内细胞因子都会影响 ODM 的成熟程度。

此外, 研究人员还可以通过特定方法将 PIOs 的极性改变, 可以在不破坏 3D 结构的前提下将肠道类器官的绒毛顶端倒置暴露出来。一般可以通过降低基质胶浓度的来液化培养基, 在液态培养基下培养的 PIOs 极性就会发生改变。STROULIOS 等^[34]提供了两种去除基质胶的方法, 经由这两种方法得到 PIOs 绒毛组织结构都倒置暴露出来。除了去除基质胶, 还可以控制相应的细胞因子来改变 PIOs 的极性。CO 等^[35]发现了整合素 $\beta 1$ 在控制肠道细胞极性中的重要性, 他们通过阻断了整合素 $\beta 1$ 的信号通路, 同样也培养出极性反转的肠道类器官^[36]。该方法已经在 PIOs 中得到应用, 并成功建立了绒毛顶端外露的 PIOs。这种极性改变的 PIOs 以及可以作为作为猪传染性肠胃炎病毒的体外模型^[37]。

2.2 宿主和微生物之间的相互作用

PIOs 含有和体内组织相似的管腔结构, 可以耐受外来细菌数天, 由此可以模拟肠道内细菌和宿主之间的相互作用^[38-39]。ETEC 型大肠杆菌会分泌肠毒素, 引起肠道内的水和电解质平衡失调, 在生产上会引起断奶仔猪的严重腹泻, 对农业生产造成了严重的影响。BEAUMONT 等^[40]发现早期哺乳期仔猪微生物产生的三甲酸和丁酸盐不会对 PIOs 肠道上皮稳态造成影响, 早期微生物群可能不是仔猪易感断奶仔猪腹泻的主要因素。而目前已经有研究将 ETEC 型大肠杆菌成功感染 PIOs 来源的 ODM, 发现这些 ODM 同样也出

现了电解质平衡失调的病理状况^[28]。也有研究将 PIOs 作为体外模型与体内模型进行对比探究, 发现肠毒素会通过下调 Wnt/ β -连环蛋白信号通路来抑制隐窝内干细胞增殖和更新, 进一步破坏肠道上皮黏膜的完整性^[41]。也有多个报道将 PIOs 作为体外模型来探究其他细菌和宿主的相互作用。DERRICOTT 等^[2]成功通过显微注射的方式将鼠伤寒沙门菌成功感染了 PIOs。HOFFMANN 等^[31]在 PIOs 来源的 ODM 中加入霍乱毒素, 会导致 ODM 中肠上皮细胞氯离子浓度失衡, 出现了和霍乱弧菌感染相同的病理变化。未来 PIOs 可以成为一种细菌体外研究的有效模型。

基于类器官的复杂的组织结构, 类器官还可以作为研究寄生虫和宿主之间的相互作用的体外模型^[42]。目前已经有其他物种的类器官用于研究血液、神经元、肝和肠道寄生原虫(即恶性疟原虫、刚地弓形虫和十二指肠贾第鞭毛虫)^[43]。DERRICOTT 等^[2]发现弓形虫可以感染 PIOs, 这意味着 PIOs 可以为预防和控制寄生虫提供一个具有潜力的体外模型。

2.3 猪肠道类器官在营养发育等领域的应用

猪肠道类器官含有与体内相似的结构, 能够更好模拟实验中加药前后体内组织器官的生理学变化。因此, 猪肠道可以作为复杂性低的单种细胞培养物和复杂性高的动物模型之间的中间模型。这对研究农业生产中肠道对营养条件变化的反应具有重要意义。MADSEN 等^[44]构建了不同肠段、不同饲料效率的猪肠道类器官类器官, 确定了不同饲料效率下的类器官表达差异, 以及大肠杆菌攻击下组织的先天免疫反应。MEDIDA 等^[45]利用猪肠道类器官探究猪肠道类器官对有机形式的 Zn 对炎症分子的影响, 发现经过 Zn 供药的猪肠道类器官中 *MT1* 和 *ZIP4* 的表达变化和文献报告的一致。YIN 等^[46]通过猪肠道类器官探究了铁元素促进了肠上皮细胞成熟, 这对实际畜牧生产具有重大意义。上述研究表明, 猪肠道类器官可以作为营养发育探究的重要工具。

2.4 猪肠道类器官的其他应用

类器官也可以用于评价药物效果。人的 iPSCs 或者是病变隐窝组织的肠道类器官已经用

于进行药物筛选。但目前隐窝病变组织来源的类器官会有组织来源差异性,这会影响最后的实验结果^[1]。而人的 iPSCs 诱导形成肠道类器官的时间很长^[47]。考虑到猪和人在器官组织的相似性,PIOs 在药物筛选上也具有重大的潜力。已经有研究报道了利用 PIOs 来评估两种临床使用的抗结肠癌药物伊立替康和瑞戈非尼,相比于猴的肠道类器官,PIOs 对该两种药物的敏感性更接近人^[18]。利用 PIOs 来评估药物效果,还能有效避免伦理问题。

PIOs 可以作为一种的疾病模型探究发病机制。基于肠道类器官可以模拟部分体内的生理环境,STIELER 等^[48]从猪缺血肠祥中分离和培养肠隐窝构建了 PIOs,进而模拟了人类缺血性损伤的病理状况,以此作为体外模型探究是否能在体外进行由干细胞调节的上皮修复。也有研究通过对炎症性肠道疾病的相关细胞因子的筛选,发现白介素等一系列的炎症因子会影响肠道干细胞的活性,这在开发肠道疾病的治疗方法时有重要启示^[49-51]。

3 猪肠道类器官发展所面对挑战和展望

尽管这几年来 PIOs 的相关领域都有一定的突破,但目前仍然会面临很多的挑战。首先,PIOs 的培养缺乏一个固定标准的流程,类器官培养基内的成分也未标准化,这都会影响体外实验的重复性和结果。Wnt3a、R-spondin1 和 Noggin 的比例和浓度对类器官的分化十分重要,目前有研究考虑使用商业化学合成的 Wnt3a、R-spondin1 和 Noggin 来培养类器官,但价格昂贵,不适合一些大规模的实验^[1]。此外,许多实验室通过实验室自制的条件培养基作为 PIOs 培养基的补充。这些条件培养基可能根据实验室环境不同而有很大的差异,这同样会影响实验的可重复性^[49]。其主要原因在于物种之间的细胞分化调控存在差异,不同物种所需细胞因子种类及比例存在差异。采用统一培养基培养不同物种细胞,其分化结果明显不同^[18]。现有研究多基于成熟的人或小鼠肠道类器官培养体系,探究如何降低减少猪肠道类器官构建的体内外之间的差异,通过优化

细胞因子占比以促进猪肠道类器官分化。其次,不同肠段对细胞因子的需求存在差异,在构建不同肠段的类器官时,需要优化其中特定的细胞因子。而目前针对不同肠段的猪肠道类器官构建的研究报道相对较少。因此,当前尚缺乏一套标准化、可重复的猪肠道类器官成熟培养方案。目前一个解决方案是开发出新的培养基基质代替目前常用的 Matrigel, FINKBEINER 等^[52]开发了一种去细胞猪肠道基质和人工聚羟基乙酸/聚 L 乳酸支架,该支架可以支持人的肠道类器官培养。此外,还可以通过利用猪体内来源的材料来进一步模仿体内相似的微环境,减少类器官构建的体内外之间的差异。XU 等^[53]构想出一种基于猪小肠黏膜下层细胞的细胞外基质研发出的新型生物墨水配方,这种生物墨水可以为肠道的 ASCs 提供具有一种与体内相似的仿生结构和生态环境。相对于传统的 Matrigel, PIOs 可以在该培养基内更好地重现猪肠道上皮细胞和其他肠道成分的相互作用,进一步发挥出类器官的应用优势。

PIOs 和体内组织也存在着体外模型代表性的差异。其一在于分化成熟程度和体内组织仍然存在着差异。相比于体内组织,PIOs 的干细胞标志物 Sox9 和 Lgr5 基因表达水平更高,而 Atoh1、Cga 和 Muc2 基因表达水平在结肠上皮细胞中更低^[54]。其二在于缺少循环系统和完整的免疫系统参与,这导致其与体内微环境之间存在显著差异。目前已经有研究将小鼠类器官移植到小鼠体内,并成功在小鼠体内进行共培养^[55]。SUGIMOTO 等^[56]发现移植到大鼠体内的体外类器官可以形成相应的绒毛结构,这对猪体外类器官培养移植体内进行治疗也有一定的启示。还可以通过生物工程等多种方式构建类器官的共培养体系,控制该体系中的细胞类型、组织结构以及细胞与细胞/细胞基质的相互作用,弥补类器官不能与其他组织和器官相互作用的缺点^[57]。此外,类器官也可以融入到器官芯片中这一技术中,通过微传感技术联络每个不同的微组织,实现各个芯片相互联系,进一步模拟体内复杂的生理状况^[58]。

4 结论

近年来,类器官的发展十分迅速。类器官在

符合 3R 原则基础上提供了一种有价值的体外模型。基于猪的组织器官和人在生理和结构上的相似性,猪的相关研究也备受广大科研人员青睐。如今,PIOs 的培养方法和技术正在不断的优化,但目前仍有培养方法无法标准化、分化程度和体内存在差异、缺少循环系统和免疫系统的参与等问题。目前 PIOs 已经运用在探究病毒、细菌、寄生虫和宿主的相互作用。此外,PIOs 还可以用于药物筛选和医疗策略中,未来 PIOs 还可以在营养学研究和病理学研究中成为一种有潜力的工具。PIOs 为研究疾病、测试不同物种的不同器官系统上的环境刺激物的作用和开发新的治疗方法提供了一种有价值的体外方法。

参 考 文 献(References)

- [1] MA P, FANG P, REN T, et al. Porcine intestinal organoids: overview of the state of the art [J]. *Viruses*, 2022, 14(5): 1110.
- [2] DERRICOTT H, LUU L, FONG W Y, et al. Developing a 3D intestinal epithelium model for livestock species [J]. *Cell Tissue Res*, 2019, 375(2): 409–424.
- [3] VAN DER HEE B, MADSEN O, VERVOORT J, et al. Congruence of transcription programs in adult stem cell-derived jejunum organoids and original tissue during long-term culture [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2020, 8: 375.
- [4] RIZK P, BARKER N. Gut stem cells in tissue renewal and disease: methods, markers, and myths [J]. *Wiley Interdiscip Rev Syst Biol Med*, 2012, 4(5): 475–496.
- [5] BAI L, ZHOU D, LI G, et al. Engineering bone/cartilage organoids: strategy, progress, and application [J]. *Bone Res*, 2024, 12(1): 66.
- [6] O'CONNELL L, WINTER D C. Organoids: past learning and future directions [J]. *Stem Cells Dev*, 2020, 29(5): 281–289.
- [7] BARKER N, VAN ES J H, KUIPERS J, et al. Identification of stem cells in small intestine and colon by marker gene *Lgr5* [J]. *Nature*, 2007, 449(7165): 1003–1007.
- [8] 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.
- [9] SATO T, STANGE D E, FERRANTE M, et al. Long-term expansion of epithelial organoids from human colon, adenoma, adenocarcinoma, and Barrett's epithelium [J]. *Gastroenterology*, 2011, 141(5): 1762–1772.
- [10] GONZALEZ L M, WILLIAMSON I, PIEDRAHITA J A, et al. Cell lineage identification and stem cell culture in a porcine model for the study of intestinal epithelial regeneration [J]. *PLoS One*, 2013, 8(6): e66465.
- [11] CHANDRA L, BORCHERDING D C, KINGSBURY D, et al. Derivation of adult canine intestinal organoids for translational research in gastroenterology [J]. *BMC Biol*, 2019, 17(1): 33.
- [12] POWELL R H, BEHNKE M S. WRN conditioned media is sufficient for *in vitro* propagation of intestinal organoids from large farm and small companion animals [J]. *Biol Open*, 2017, 6(5): 698–705.
- [13] OLAYANJU A, JONES L, GRECO K, et al. Application of porcine gastrointestinal organoid units as a potential *in vitro* tool for drug discovery and development [J]. *J Appl Toxicol*, 2019, 39(1): 4–15.
- [14] ZHANG J, CHEN Y, GUO X, et al. The gut microbial metabolite indole-3-aldehyde alleviates impaired intestinal development by promoting intestinal stem cell expansion in weaned piglets [J]. *J Anim Sci Biotechnol*, 2024, 15(1): 150.
- [15] GOPALLAWA I, GUPTA C, JAWA R, et al. Applications of organoids in advancing drug discovery and development [J]. *J Pharm Sci*, 2024, 113(9): 2659–2667.
- [16] XU C, INOKUMA M S, DENHAM J, et al. Feeder-free growth of undifferentiated human embryonic stem cells [J]. *Nat Biotechnol*, 2001, 19(10): 971–974.
- [17] BEAUCHAMP P, MORITZ W, KELM J M, et al. Development and characterization of a scaffold-free 3D spheroid model of induced pluripotent stem cell-derived human cardiomyocytes [J]. *Tissue Eng Part C Methods*, 2015, 21(8): 852–861.
- [18] LI H, WANG Y, ZHANG M, et al. Establishment of porcine and monkey colonic organoids for drug toxicity study [J]. *Cell Regen*, 2021, 10(1): 32.
- [19] VERMA M, GARG M, KHAN A S, et al. Cadmium modulates intestinal Wnt/ β -catenin signaling ensuing intestinal barrier disruption and systemic inflammation [J]. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2024, 277: 116337.
- [20] ZHENG L, DUAN S L. Molecular regulation mechanism of intestinal stem cells in mucosal injury and repair in ulcerative colitis [J]. *World J Gastroenterol*, 2023, 29(16): 2380–2396.
- [21] LI L H. BMP signaling inhibits intestinal stem cell self-renewal through antagonizing Wnt signaling [J]. *Gastroenterology*, 2005, 128(4): A702.
- [22] MILANO J, MCKAY J, DAGENAIS C, et al. Modulation of Notch processing by γ -secretase inhibitors causes intestinal goblet cell Metaplasia and induction of genes known to specify gut secretory lineage differentiation [J]. *Toxicol Sci*,

- 2004, 82(1): 341–358.
- [23] YIN X, FARIN H F, VAN ES J H, et al. Niche-independent high-purity cultures of Lgr5⁺ intestinal stem cells and their progeny [J]. *Nat Methods*, 2014, 11(1): 106–112.
- [24] XIE Z, ZHOU G, ZHANG M, et al. Recent developments on BMPs and their antagonists in inflammatory bowel diseases [J]. *Cell Death Discov*, 2023, 9(1): 210.
- [25] HE X C, ZHANG J, TONG W G, et al. BMP signaling inhibits intestinal stem cell self-renewal through suppression of Wnt-beta-catenin signaling [J]. *Nat Genet*, 2004, 36(10): 1117–1121.
- [26] MIZUNO S, JINNOH Y, ARITA A, et al. New maintenance culture method for intestinal stem cells derived from human induced pluripotent stem cells [J]. *Biol Pharm Bull*, 2024, 47(1): 120–129.
- [27] FENG Y, BOMMER G T, ZHAO J, et al. Mutant KRAS promotes hyperplasia and alters differentiation in the colon epithelium but does not expand the presumptive stem cell pool [J]. *Gastroenterology*, 2011, 141(3): 1003–1013.
- [28] VERMEIRE B, GONZALEZ L M, JANSENS R J J, et al. Porcine small intestinal organoids as a model to explore ETEC-host interactions in the gut [J]. *Vet Res*, 2021, 52(1): 94.
- [29] SIMIAN M, BISSELL M J. Organoids: a historical perspective of thinking in three dimensions [J]. *J Cell Biol*, 2017, 216(1): 31–40.
- [30] HILL D R, HUANG S, NAGY M S, et al. Bacterial colonization stimulates a complex physiological response in the immature human intestinal epithelium [J]. *eLife*, 2017, 6: e29132.
- [31] HOFFMANN P, SCHNEPEL N, LANGEHEINE M, et al. Intestinal organoid-based 2D monolayers mimic physiological and pathophysiological properties of the pig intestine [J]. *PLoS One*, 2021, 16(8): e0256143.
- [32] VAN DER HEE B, LOONEN L P, TAVERNE N, et al. Optimized procedures for generating an enhanced, near physiological 2D culture system from porcine intestinal organoids [J]. *Stem Cell Res*, 2018, 28: 165–171.
- [33] BARNETT A M, MULLANEY J A, MCNABB W C, et al. Culture media and format alter cellular composition and barrier integrity of porcine colonoid-derived monolayers [J]. *Tissue Barriers*, 2024, 12(2): 2222632.
- [34] STROULIOS G, STAHL M, ELSTONE F, et al. Culture methods to study apical-specific interactions using intestinal organoid models [J]. *J Vis Exp*, 2021(169): 1–10.
- [35] CO J Y, MARGALEF-CATALÀ M, LI X, et al. Controlling epithelial polarity: a human enteroid model for host-pathogen interactions [J]. *Cell Rep*, 2019, 26(9): 2509–2520.
- [36] JOO S S, GU B H, PARK Y J, et al. Porcine intestinal apical-out organoid model for gut function study [J]. *Animals (Basel)*, 2022, 12(3): 372.
- [37] LI Y, YANG N, CHEN J, et al. Next-generation porcine intestinal organoids: an apical-out organoid model for swine enteric virus infection and immune response investigations [J]. *J Virol*, 2020, 94(21): e01006–01020.
- [38] WANG Q, WANG F, TANG L, et al. *Bacillus amyloliquefaciens* SC06 alleviated intestinal damage induced by inflammatory via modulating intestinal microbiota and intestinal stem cell proliferation and differentiation [J]. *Int Immunopharmacol*, 2024, 130: 111675.
- [39] WILSON S S, BROMME B A, HOLLY M K, et al. Alpha-defensin-dependent enhancement of enteric viral infection [J]. *PLoS Pathog*, 2017, 13(6): e1006446.
- [40] BEAUMONT M, LENCINA C, BERTIDE A, et al. The early life microbiota is not a major factor underlying the susceptibility to postweaning diarrhea in piglets [J]. *Microbiol Spectr*, 2023, 11(4): e0069423.
- [41] ZHOU J Y, HUANG D G, GAO C Q, et al. Heat-stable enterotoxin inhibits intestinal stem cell expansion to disrupt the intestinal integrity by downregulating the Wnt/ β -catenin pathway [J]. *Stem Cells*, 2021, 39(4): 482–496.
- [42] DELGADO BETANCOURT E, HAMID B, FABIAN B T, et al. From entry to early dissemination-toxoplasma gondii's initial encounter with its host [J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2019, 9: 46.
- [43] KLOTZ C, AEBISCHER T, SEEGER F. Stem cell-derived cell cultures and organoids for protozoan parasite propagation and studying host-parasite interaction [J]. *Int J Med Microbiol*, 2012, 302(4–5): 203–209.
- [44] MADSEN O, RIKKERS R S C, WELLS J M, et al. Transcriptomic analysis of intestinal organoids, derived from pigs divergent in feed efficiency, and their response to *Escherichia coli* [J]. *BMC Genomics*, 2024, 25(1): 173.
- [45] MEDIDA R L, SHARMA A K, GUO Y, et al. Dietary zinc supplemented in organic form affects the expression of inflammatory molecules in swine intestine [J]. *Animals (Basel)*, 2023, 13(15): 2519.
- [46] YIN L, ZHANG Y, LI J, et al. Mechanism of iron on the intestinal epithelium development in suckling piglets [J]. *Sci China Life Sci*, 2023, 66(9): 2070–2085.
- [47] SPENCE J R, MAYHEW C N, RANKIN S A, et al. Directed differentiation of human pluripotent stem cells into intestinal tissue in vitro [J]. *Nature*, 2011, 470(7332): 105–109.
- [48] STIELER STEWART A, FREUND J M, BLIKSLAGER A T, et al. Intestinal stem cell isolation and culture in a porcine model of segmental small intestinal ischemia [J]. *J*

- Vis Exp, 2018(135): 57647.
- [49] ZWARYCZ B. Extrinsic regulation of intestinal STEM cell proliferation and differentiation by niche components [M]. North Carolina: The University of North Carolina at Chapel Hill; 2018.
- [50] ZHANG Y, YANG N, LI Y, et al. Transmissible gastroenteritis virus induces inflammatory responses via RIG-I/NF- κ B/HIF-1 α /glycolysis axis in intestinal organoids and in vivo [J]. J Virol, 2024, 98(6): e0046124.
- [51] WANG Q, WANG F, ZHOU Y, et al. Bacillus amyloliquefaciens SC06 relieving intestinal inflammation by modulating intestinal stem cells proliferation and differentiation via AhR/STAT3 pathway in LPS-challenged piglets [J]. J Agric Food Chem, 2024, 72(12): 6096–6109.
- [52] FINKBEINER S R, FREEMAN J J, WIECK M M, et al. Generation of tissue-engineered small intestine using embryonic stem cell-derived human intestinal organoids [J]. Biology Open, 2015, 4(11): 1462–1572.
- [53] XU Z Y, HUANG J J, LIU Y, et al. Extracellular matrix bioink boosts stemness and facilitates transplantation of intestinal organoids as a biosafe Matrigel alternative [J]. Bioeng Transl Med, 2022, 8(1): e10327.
- [54] BARNETT A M, MULLANEY J A, HENDRIKS C, et al. Porcine colonoids and enteroids keep the memory of their origin during regeneration [J]. Am J Physiol Cell Physiol, 2021, 320(5): C794–C805.
- [55] MANSOUR A A, GONÇALVES J T, BLOYD C W, et al. An *in vivo* model of functional and vascularized human brain organoids [J]. Nat Biotechnol, 2018, 36(5): 432–441.
- [56] SUGIMOTO S, KOBAYASHI E, FUJII M, et al. An organoid-based organ-repurposing approach to treat short bowel syndrome [J]. Nature, 2021, 592(7852): 99–104.
- [57] YIN X, MEAD B E, SAFAEE H, et al. Engineering stem cell organoids [J]. Cell Stem Cell, 2016, 18(1): 25–38.
- [58] CLAPP N, AMOUR A, ROWAN W C, et al. Organ-on-chip applications in drug discovery: an end user perspective [J]. Biochem Soc Trans, 2021, 49(4): 1881–1890.
- [收稿日期] 2024–11–06

《中国实验动物学报》稿约

国内刊号 CN 11–2986/Q 国际刊号 ISSN 1005–4847 邮局代号 2–748

一、杂志介绍

本刊是由中国实验动物学会与中国医学科学院医学实验动物研究所主办的全国性高级学术刊物(月刊),以理论与实践、普及与提高相结合为宗旨,征稿的范围是与实验动物与动物实验相关的生命科学各分支学科,栏目设置包括研究报告、研究快报和进展与综述。要求来稿材料翔实、数据可靠、文字简练、观点明确、论证合理,有创新、有突破、有新意。

本刊是中国科学引文数据库来源期刊、中国学术期刊综合评价数据库来源期刊、中国学术期刊综合评价数据库(CAJCED)统计源期刊、《中国学术期刊文摘》来源期刊;被中国生物学文献数据库、《中国核心期刊(遴选)数据库》、《中国科技论文统计源期刊》(中国科技核心期刊)、《中文核心期刊要目总览》(北大核心)等数据库收录。

二、投稿要求及注意事项

文稿内容要具有创新性、科学性和实用性,论点明确,资料可靠,文字通顺精练,标点符号准确,用词规范,图表清晰。文章字数在 6000 字之内。

投稿网址: <http://zgswdw.cnjournals.com/>

期待您的来稿!