

DOI:10.3872/j.issn.1007-385x.2025.11.003

· 基础研究 ·

胆管癌类器官模型的构建及药物反应异质性的初步分析

林圣哲¹, 张灵玉^{2,3}, 陶世莉^{2,3}, 张麟腾^{2,3}, 叶韵斌^{2,3}, 陈燕凌¹ (1. 福建医科大学附属协和医院 肝胆外科, 福建福州 350001; 2. 福建医科大学肿瘤临床医学院暨福建省肿瘤医院 肿瘤免疫学研究室, 福建福州 350014; 3. 福建省肿瘤转化医学重点实验室, 福建福州 350014)

[摘要] **目的:** 构建胆管癌(CCA)患者来源癌组织类器官(PDO)模型, 并评估其在检测顺铂与吉西他滨单药及联合用药敏感性中的应用价值。**方法:** 收集4例经病理确诊、术前未行系统治疗的胆管癌患者的肿瘤组织, 采用基质胶三维培养法构建PDO模型, 并通过苏木精-伊红(H-E)染色法、免疫组化(IHC)法及全外显子组测序(WES)验证其与原发肿瘤的组织学形态及遗传特征一致性。对稳定传代的PDO采用三磷酸腺苷(ATP)法进行药物敏感性检测, 拟合剂量-反应曲线计算 IC_{50} ; 并通过Chou-Talalay方法计算联合指数(CI)评估协同作用。**结果:** 成功构建3例可稳定传代超过7代的CCA的PDO模型, H-E和IHC结果显示PDO模型与原发肿瘤组织高度一致, WES显示配对PDO保留了其来源组织约78.4%的遗传变异。3例PDO对顺铂的 IC_{50} 分别为 (277.50 ± 4.056) 、 $(9.129 0 \pm 1.012)$ 及 (115.50 ± 3.034) $\mu\text{mol/L}$; 对吉西他滨的 IC_{50} 分别为 $(0.581 8 \pm 0.020)$ 、 $(0.012 1 \pm 0.008)$ 及 $(0.048 9 \pm 0.004)$ $\mu\text{mol/L}$, 显示显著个体差异。联合用药实验中, PDO#1表现为显著协同作用($CI = 0.116 \sim 0.573$); PDO#2在低剂量出现拮抗, 部分中等剂量呈协同; PDO#3在低剂量出现拮抗, 在中剂量呈协同, 而在高剂量再次出现拮抗(最高组 $CI \approx 1.99$), 表明该药物组合的协同作用仅限于一个剂量范围内。**结论:** 本研究构建的CCA的PDO模型能再现原发肿瘤组织的形态学及遗传学特征, 有效模拟患者肿瘤的药物反应异质性, 为临床个性化治疗方案的选择和优化提供了高效、可靠的检测平台。

[关键词] 胆管癌; 类器官; 药物敏感性; 顺铂; 吉西他滨

[中图分类号] R735.8; R73-3 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385x(2025) 11-1121-07

Construction of cholangiocarcinoma organoid models and preliminary analysis of heterogeneity in drug response

LIN Shengzhe¹, ZHANG Lingyu^{2,3}, TAO Shili^{2,3}, ZHANG Linteng^{2,3}, YE Yunbin^{2,3}, CHEN Yanling¹ (Department of Hepatobiliary Surgery, Union Hospital Affiliated to Fujian Medical University, Fuzhou 350001, Fujian, China; 2. Laboratory of Immuno-Oncology, Cancer Hospital of Fujian Medical University & Fujian Cancer Hospital, Fuzhou 350014, Fujian, China; 3. Key Laboratory of Translational Cancer Medicine of Fujian Province, Fuzhou 350014, Fujian, China)

[Abstract] **Objective:** To construct patient-derived organoid (PDO) models of cholangiocarcinoma (CCA) and evaluate their application values in assessing the drug sensitivity to cisplatin and gemcitabine, both as single agents and in combination. **Methods:** Tumor tissues were collected from four patients with pathologically confirmed cholangiocarcinoma who had not received any prior systematic treatment. PDO models were constructed using matrigel 3D cultures. The consistency of histological morphology and genetic characteristics between PDO and primary tumors was validated by hematoxylin-eosin (H-E) staining, immunohistochemistry (IHC) and whole-exome sequencing (WES). Drug sensitivity of stably passaged PDO was detected using the adenosine triphosphate (ATP) assay, and dose-response curves were used to calculate the half-maximal inhibitory concentration (IC_{50}). Synergistic effects were evaluated by calculating the combination index (CI) through the Chou-Talalay method. **Results:** PDO models for three CCA strains capable of stable subculturing for over seven generations were successfully constructed. H-E staining and IHC results demonstrated high consistency between the PDO models and the primary tumors. WES analysis revealed that the paired PDO retained approximately 78.4% of the genetic variations present in the source tissues. The IC_{50} values of the three PDO for cisplatin were (277.50 ± 4.056) , $(9.129 0 \pm 1.012)$, and (115.50 ± 3.034) $\mu\text{mol/L}$, respectively, while the IC_{50} values for gemcitabine were $(0.581 8 \pm 0.020)$, $(0.012 1 \pm 0.008)$, and $(0.048 9 \pm 0.004)$ $\mu\text{mol/L}$, indicating significant inter-individual differences. In the combination therapy experiment, PDO#1 exhibited a significant synergistic effect ($CI = 0.116 \sim 0.573$); PDO#2 showed antagonism at low doses and synergy at moderate doses;

[基金项目] 福建省自然科学基金资助项目(No. 2022J01742)

[作者简介] 林圣哲(1992—), 男, 博士生, 主治医师, 主要从事肝脏肿瘤发生发展及免疫调控机制的研究和临床治疗

[通信作者] 陈燕凌(扫码获取作者联系方式)



PDO#3 displayed antagonism at low doses, synergy at moderate doses, and a return to antagonism at high doses ($CI \approx 1.99$ in the highest concentration group). These results indicated that the synergistic effect of the drug combination was strictly confined to a specific dose range. **Conclusion:** The CCA PDO model faithfully reproduces the morphological and genetic features of the original tumor, and effectively simulates the heterogeneous drug response patterns in patients' tumors, which provides an efficient and reliable platform for selecting and optimizing personalized clinical treatment strategies.

[Key words] cholangiocarcinoma (CCA); organoid; drug sensitivity; cisplatin; gemcitabine

[Chin J Cancer Biother, 2025, 32(11): 1121-1127. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2025.11.003]

胆管癌(cholangiocarcinoma, CCA)是一种起源于胆管上皮、恶性程度较高的消化道肿瘤,近年来其发病率呈上升趋势,患者预后极差,5年总体生存率不足10%^[1-2]。由于早期症状隐匿且缺乏特异性诊断标志物,约70%的患者确诊时已进展至晚期,丧失根治性手术机会^[3]。目前,联合顺铂和吉西他滨的化疗是晚期CCA的一线化疗方案,但患者响应率仅为20%~40%,且个体差异显著^[4]。这种异质性凸显了开发个性化治疗策略的紧迫性。近年来,患者来源类器官(patient-derived organoid, PDO)技术为肿瘤精准医疗提供了新工具。PDO通过体外三维培养保留原发肿瘤的组织结构、基因突变谱和药物敏感性,已被广泛应用于结直肠癌、乳腺癌等实体瘤的研究^[5]。在CCA领域,初步研究^[6]表明PDO能准确预测患者对化疗的临床反应,但其在联合用药筛选中的应用仍

需系统验证。本研究旨在建立CCA的PDO模型,通过整合形态学、分子标志物分析和药物敏感性测试,评估其在个性化药物筛选中的可行性。研究结果将为CCA的精准治疗提供实验依据,并推动PDO技术的临床转化。

1 材料与方法

1.1 主要材料与试剂

CCA组织样本取自2023年1月至2024年1月于福建医科大学附属协和医院肝胆外科接受手术的4例患者,所有病例均经病理确诊且术前未进行任何治疗。患者的人口统计学特征、临床特点以及用于建立PDO的组织样本信息均在表1中呈现。本研究的实验方案已经福建医科大学附属协和医院伦理委员会的审查并获得批准(批准编号:2022KJT032)。

表1 患者临床信息

类器官编号	性别	年龄/岁	肿瘤	pT	pN	pM	分期
PDO#1	男	67	CCA	T2	N1	M0	IIIB
PDO#2	女	57	CCA	T1	N0	M0	II
PDO#3	女	70	CCA	T3	N0	M0	IIIA
	男	70	CCA	T4	N0	M0	IIIB

组织消化液、组织保存液和CCA类器官培养液购自中国苏州bioGenous公司,基质胶购自美国Corning公司,小鼠抗人细胞角蛋白7(cytokeratin 7, CK7)抗体购自美国Abcam公司,辣根过氧化物酶(horseradish peroxidase, HRP)标记的山羊抗小鼠IgG抗体购自美国Cell Signaling Technology公司,顺铂和吉西他滨购自美国MCE公司,三磷酸腺苷(adenosine triphosphate, ATP)试剂盒购自美国Promega公司,DNA提取试剂盒购自德国QIAGEN公司。

1.2 基质胶三维培养构建CCA的PDO模型

在无菌条件下获取新鲜CCA组织,置于预冷的组织保存液中转至实验室。组织经含1%青霉素/链霉素双抗的PBS充分漂洗,去除坏死组织、纤维化组织、脂肪和血污后,剪碎成0.5~1 mm³的小块。加入组织消化液于37℃消化30 min,待组织消化为松散结构时,加入等体积含10%胎牛血清的培养基终止

消化,经100 μm滤网过滤获得单细胞悬液。细胞以 1×10^6 个/mL密度与基质胶(>70%)冰上混匀后,取50 μL接种至24孔板,37℃固化15 min,每孔加入500 μL CCA的PDO模型培养液进行三维培养。传代时收集类器官-基质胶复合物,经消化、离心后按相同条件重新接种培养。

1.3 苏木精-伊红(H-E)染色法观察CCA组织和PDO的组织学特征

将CCA组织和PDO置于4%多聚甲醛中,于4℃下固定24 h,随后进行石蜡包埋。将包埋后的组织切成约5 μm的切片,经烤片处理后,依次使用二甲苯进行脱蜡、梯度乙醇进行水化,每个步骤处理5 min。最后用PBS洗涤3次,每次5 min。参照标准流程进行H-E染色:苏木精核染3~8 min,伊红胞质染1~3 min。染色后的切片经梯度乙醇脱水,二甲苯透明化,最后封片、晾干,于显微镜下观察拍照。

1.4 免疫组化(IHC)法检测 CCA 组织和 PDO 中 CK7 蛋白的表达

IHC 检测包括抗原修复、非特异性封闭(使用 5% BSA)、一抗 CK7(稀释比例 1:200) 4 °C 反应过夜、HRP 标记二抗(稀释比例 1:1 000)室温孵育及 DAB 显色等步骤。最后经脱水透明后封片,于倒置显微镜下观察并采集图像进行分析。

1.5 全外显子组测序鉴定基因

收集构建的 CCA 的 PDO 模型及其对应的原代组织,使用 DNA 提取试剂盒提取基因组 DNA,后送到北京诺禾致源(Novogene)生物科技公司进行全外显子组测序(whole-exome sequencing, WES),并进行相关分析。

1.6 ATP 法检测 PDO 在顺铂和吉西他滨不同浓度下的药物敏感性

取第3至5代的 CCA 的 PDO 模型,经消化制备成单细胞悬液。调配含有 1×10^3 个单细胞的 8 μ L 80% 基质胶溶液,接种至 96 孔板中,于 37 °C 固化 10 min 后培养 48 h。随后,分别加入顺铂(0~100 μ mol/L)和吉西他滨(0~1 μ mol/L)两种药物,每种药物设置 8 个连续稀释浓度进行处理。药物持续作用 120 h 后,采用 ATP 法

检测细胞活力,通过拟合浓度-响应曲线评估单药敏感性,并运用 Chou-Talalay 方法计算联合指数(combination index, CI)以评估药物联用效果:CI < 1 提示协同作用,CI = 1 为相加效应,CI > 1 则表明拮抗作用。采用 CompuSyn 等专业软件绘制 CI-效应曲线,定量分析药物联用效果。

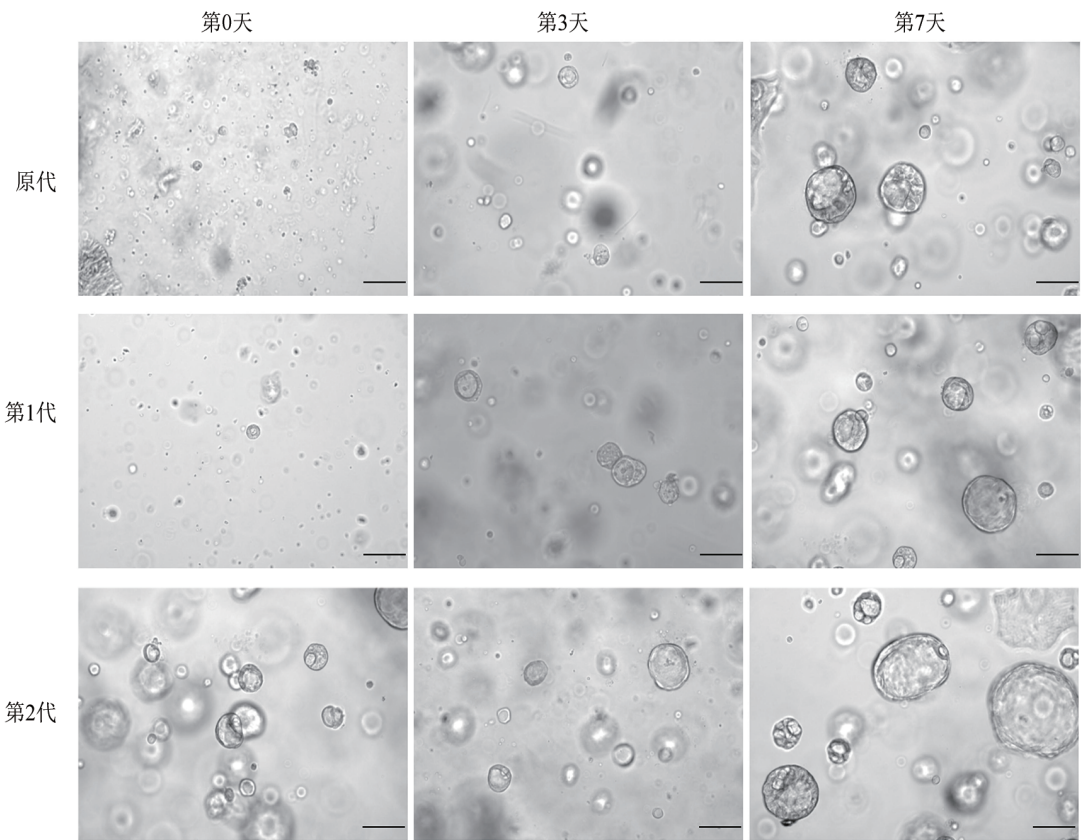
1.7 统计学处理

以上主要实验均独立重复 3 次。采用 GraphPad Prism 9.0 软件对实验数据进行分析,符合正态分布的计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。两组间差异分析用独立样本 *t* 检验,多组间差异用单因素方差分析,以 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异具有统计学意义。

2 结 果

2.1 CCA 的 PDO 模型成功构建

本研究从获取的 4 例 CCA 肿瘤组织样本中,成功构建了 3 例可稳定扩增的 CCA 的 PDO 模型,均能稳定传代超过 7 代。这些 CCA 的 PDO 模型在培养过程中呈现出典型的囊状特征,同时展现出良好的生长活性,能够持续生长和分裂,形成具有三维结构的细胞团(图 1)。



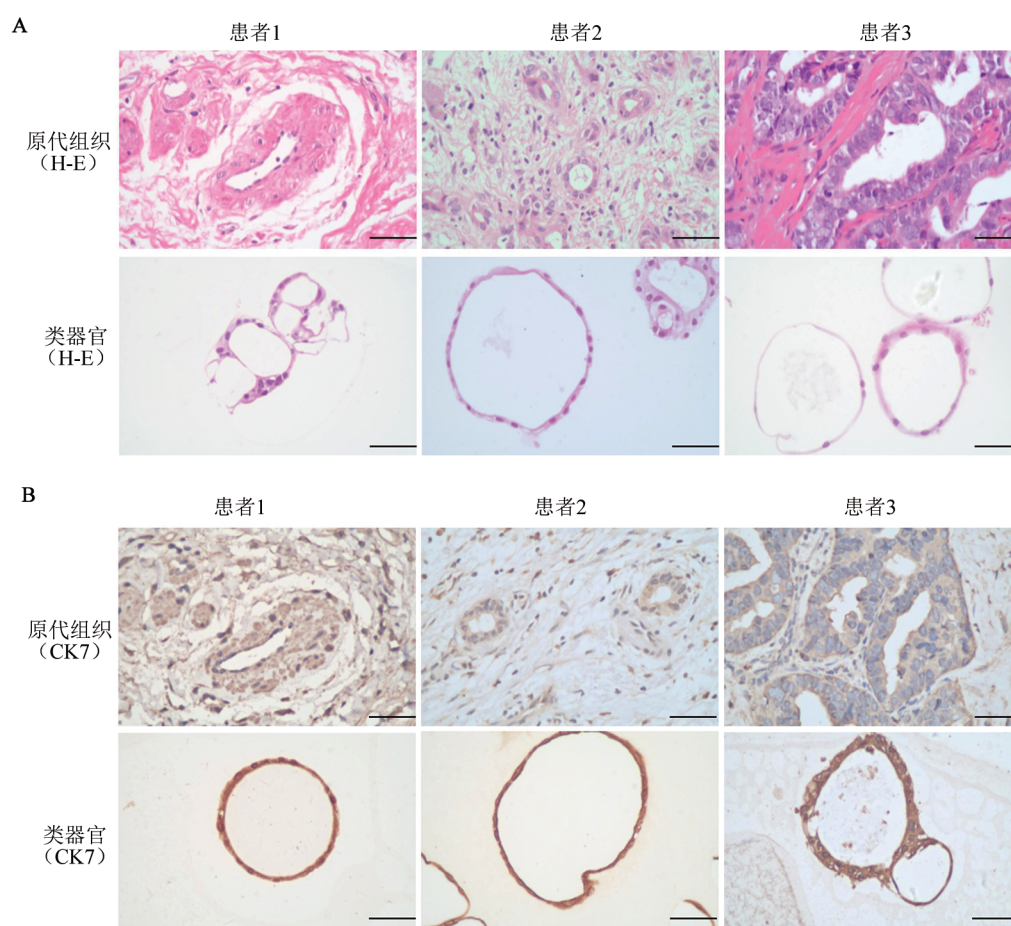
展示原代、第1代至第7代 PDO 在不同培养时间点(第0、3和7天)的显微镜下结构特征(比例尺 = 100 μ m)。

图1 PDO 培养体系的动态形态学观察(PDO#1)

2.2 CCA 的 PDO 模型与原代肿瘤组织形态学表征一致

H-E 染色结果(图2A)显示,CCA 的 PDO 模型的细胞形态特征与原代肿瘤组织之间具有高度一致

性。IHC 分析结果(图2B)显示,PDO 模型稳定表达了 CCA 原代肿瘤的关键分子标志物(CK7),其表达模式与来源肿瘤组织高度一致。



A: CCA 组织和 CCA 的 PDO 模型的 H-E 染色; B: CCA 组织和 CCA 的 PDO 模型的 IHC 染色对比图。比例尺 = 50 μm 。

图2 CCA 的 PDO 模型的构建及与原代肿瘤组织一致性鉴定

2.3 CCA 的 PDO 模型与原代肿瘤的遗传特征一致

WES 测序结果(图3)显示,PDO 与原代肿瘤的遗传特征一致。突变谱特征分析结果(图3A)显示,配对类器官培养体系保留了原代组织 78.4% 的遗传变异。碱基替换分布的对比分析结果(图3B)显示,PDO 与原代肿瘤组织的单碱基替换谱高度一致,其中 T > C 转换占比最高,G > A 转换次之;而 G > C、G > T、C > A 及 T > A 转换的发生频率相对较低。此外,对肿瘤相关突变基因的对比分析结果(图3C)显示,原代组织中绝大多数肿瘤相关基因突变在其对应 PDO 模型中均得以保留。同时,外显子变异情况对比结果(图3D)显示,外显子区域的变异负荷在两类样本间也保持高度一致。

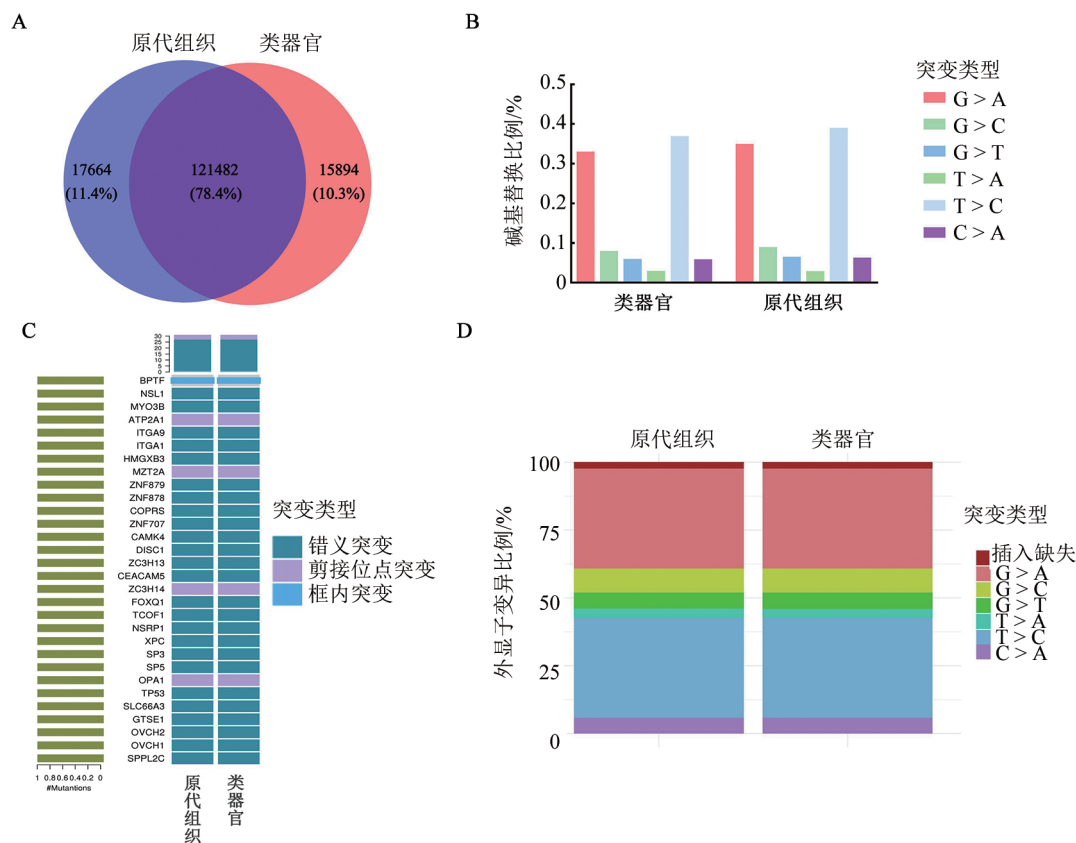
2.4 CCA 的 PDO 模型的药物敏感性存在个体差异

通过 ATP 法分析不同药物浓度的剂量反应,结果(图4A、B)显示,不同患者来源的 PDO 对相同药物

的敏感性存在显著差异,且同一患者来源的 PDO 对不同药物的敏感性也各不相同。IC₅₀ 分析进一步量化了这一现象:3 个 PDO 模型对顺铂(图4C)和吉西他滨(图4D)的 IC₅₀ 值差异明显,且同一模型对两种药物的敏感性也各不相同。

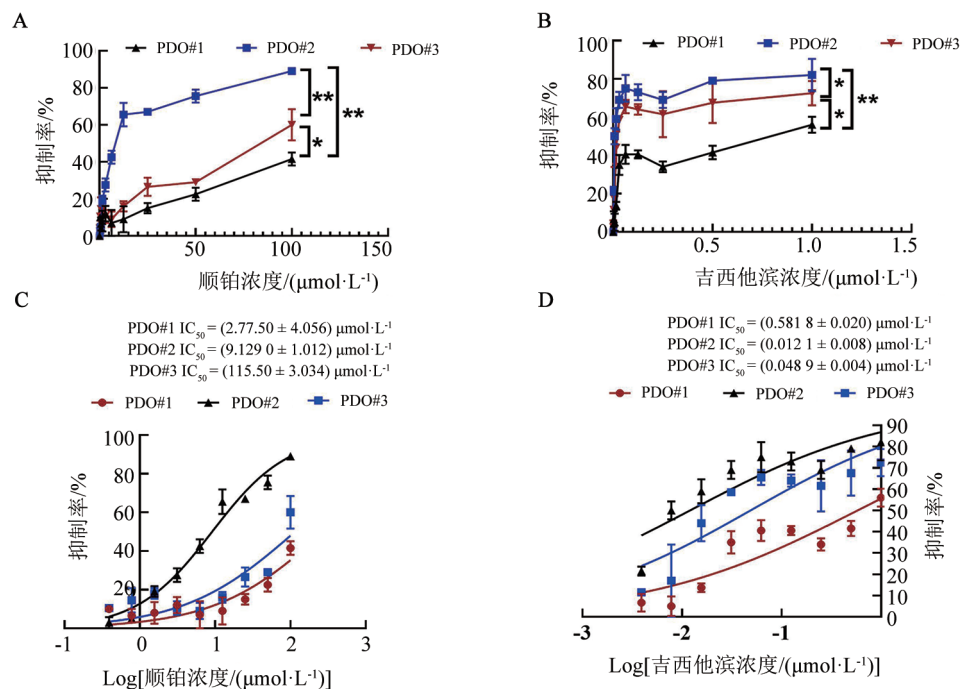
2.5 吉西他滨与顺铂联合用药在 PDO 中呈现显著的瘤间异质性与剂量依赖性协同效应

进一步评估 3 种 PDO 模型中吉西他滨与顺铂的联合用药效应,呈现出显著的瘤间异质性(图5)。基于 Chou-Talalay CI 的定量分析结果(表2)显示: PDO#1 表现为显著协同作用(CI = 0.116~0.573); PDO#2 评估结果显示典型的剂量依赖性效应:最低剂量组(吉西他滨 0.004 $\mu\text{mol/L}$ + 顺铂 0.39 $\mu\text{mol/L}$)呈现强拮抗(CI = 6.37);在吉西他滨 0.008~0.5 $\mu\text{mol/L}$ + 顺铂 0.78~50 $\mu\text{mol/L}$ 范围内均显示协同(CI = 0.25~0.79),峰值协同出现在 0.016 $\mu\text{mol/L}$ + 1.56 $\mu\text{mol/L}$



A: 在原代组织和相应 PDO 中鉴定的变异之间的相关图; B: 关于 PDO 及其原代组织中碱基替换分布的对比分析图; C: PDO 与原代组织中共同突变特征的整合分析; D: 在原代组织和相应 PDO 中外显子突变类型。

图3 PDO 与原代肿瘤组织的遗传学特征对比分析



A、B: ATP 检测不同 PDO 对顺铂(A)和吉西他滨(B)敏感性; C、D: 不同 PDO 对顺铂(C)和吉西他滨(D)的剂量反应拟合曲线及 IC_{50} 值比较。* $P < 0.05$; ** $P < 0.01$ 。

图4 PDO 模型的药物敏感性筛选

组合($CI = 0.25$); 最高剂量组($1 \mu\text{mol/L} + 100 \mu\text{mol/L}$) CI 回升至 1.09, 协同效应消失。PDO#3 的联合用药

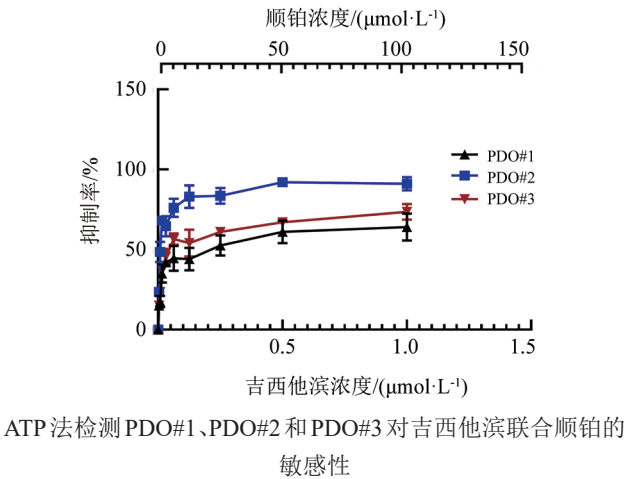
效应呈现非线性剂量响应; 在最低测试剂量(吉西他滨 $0.003 91 \mu\text{mol/L} +$ 顺铂 $0.390 63 \mu\text{mol/L}$)即显示显

著拮抗(CI = 2.029),随剂量升高至吉西他滨0.0156~0.062 5 $\mu\text{mol/L}$ + 顺铂1.562 5~6.25 $\mu\text{mol/L}$ 区间时转为协同(CI = 0.710~0.573);但当剂量继续增加(吉西他滨 $\geq 0.125 \mu\text{mol/L}$ + 顺铂 $\geq 12.5 \mu\text{mol/L}$)后,CI值回升至 > 1.4 (最高剂量组CI = 1.987),表明该模型存在明确的协同剂量窗口。

3 讨论

本研究成功构建了CCA的PDO模型,其形态结构和遗传特征与原代肿瘤组织高度一致,证实了PDO在模拟肿瘤生物学特性方面的可靠性,与既往研究^[7]结果相符,进一步支持PDO作为临床前研究模型的适用性。药敏实验所揭示的显著个体差异,凸显了PDO在捕捉CCA异质性方面的独特价值。例如,PDO#2对顺铂的敏感性提示其可能存在DNA修复通路(如同源重组修复)的缺陷^[8-9],未来可通过WES验证PDO#2是否携带同源重组修复通路相关突变。而不同模型对吉西他滨的代谢效率差异则可能与脱氧胞苷激酶(deoxycytidine kinase,

DCK)、磷酸酶张力蛋白同源物(phosphatase and tensin homolog, PTEN)等代谢关键蛋白的表达水平不同有关^[10]。这些发现初步验证了模型的有效性,为在个体化水平深入探究药物反应机制提供了可能。



ATP法检测PDO#1、PDO#2和PDO#3对吉西他滨联合顺铂的敏感性

图5 吉西他滨与顺铂在PDO中的联合用药效果

表2 PDO#1、PDO#2、PDO#2中吉西他滨与顺铂联合给药的剂量组合与联合指数(CI)

吉西他滨/ $(\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1})$	顺铂/ $(\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1})$	联合抑制率/%			CI		
		PDO#1	PDO#2	PDO#3	PDO#1	PDO#2	PDO#3
0.003 91	0.390 63	15.0	23.5	15.0	0.226 00	6.365 66	2.028 68
0.007 81	0.781 25	17.5	48.5	23.5	0.318 00	0.793 17	1.317 67
0.015 63	1.562 50	35.0	68.0	37.0	0.116 00	0.247 04	0.710 89
0.031 25	3.125 00	42.0	64.5	45.5	0.138 00	0.693 85	0.699 01
0.062 50	6.250 00	44.5	76.0	56.5	0.230 00	0.439 22	0.573 21
0.125 00	12.500 00	44.0	83.0	54.0	0.477 00	0.402 72	1.405 83
0.250 00	25.000 00	52.5	83.5	61.0	0.525 00	0.758 71	1.576 28
0.500 00	50.000 00	61.0	92.0	67.0	0.573 00	0.460 42	1.863 12
1.000 00	100.000 00	64.0	91.0	73.5	0.917 00	1.089 28	1.986 84

本研究的另一重要发现在于揭示了药物协同作用的复杂性。尽管PDO#1中观察到的显著协同效应(CI = 0.116~0.573)与ABC-02临床试验结果^[11]一致,支持吉西他滨联合顺铂作为一线方案的科学性,但PDO#3所呈现的“低剂量拮抗→中剂量协同→高剂量再拮抗”三阶段模式更具启示意义。这种非线性剂量效应表明,临床联合用药不能一概而论,低剂量拮抗的出现提示对于部分患者而言,传统剂量递减策略可能反而激活促生存信号(如MUC4-AKT通路^[12])或导致疗效下降,而高剂量下的效应逆转则可能与药物代谢饱和有关^[13]。因此,PDO模型的价值不仅在于预测有效方案,更在于规避潜在有害剂量,为实现精准剂量锁定提供了参考。例如,产生协同效应的吉西他滨剂量范围(0.015 6~0.0625 $\mu\text{mol/L}$)可

为剂量爬坡试验提供参考,尤其适用于肝功能不全患者的剂量调整。而PDO#3类患者则或需替换顺铂为与吉西他滨协同性更稳定的奥沙利铂^[14]。

尽管PDO模型在CCA研究中展现出显著优势,但其临床应用仍面临培养时效性与肿瘤微环境模拟两大关键挑战^[15-17]。目前4~6周的培养周期与晚期患者12个月的中位生存期存在明显时间差^[18],亟需通过开发自动化培养系统、优化培养基配方及建立类器官冻存库等技术手段缩短周期。同时,现有模型缺乏免疫成分的参与限制了其对免疫治疗方案的评估能力,未来可通过建立PDO-免疫细胞共培养体系或采用生物打印技术来更真实地模拟肿瘤微环境^[19-20]。

综上所述,本研究初步证实了PDO在临床决策

支持和转化研究方面的双重核心价值,强化了其作为连接基础研究与临床实践的桥梁作用。它不仅是研究肿瘤生物学和药物反应机制的临床前工具,更是实现精准医疗的关键平台。未来,通过推进标准化流程和大规模前瞻性临床研究,有望最终实现“类器官指导的个体化治疗”这一愿景。

【参考文献】

- [1] BANALES J M, MARIN J J G, LAMARCA A, *et al.* Cholangiocarcinoma 2020: the next horizon in mechanisms and management[J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2020, 17(9): 557-588. DOI:10.1038/s41575-020-0310-z.
- [2] 胡笛, 黄金涛, 仲斌演, 等. 肝内胆管癌的诊疗进展[J]. *临床肝胆病杂志*, 2024, 40(7): 1470-1476. DOI: 10.12449/JCH240728.
- [3] KNOX J J, MCNAMARA M G, BAZIN I S, *et al.* A phase III randomized study of first-line NUC-1031/cisplatin *vs.* gemcitabine/cisplatin in advanced biliary tract cancer[J]. *J Hepatol*, 2025, 83(2): 358-366. DOI:10.1016/j.jhep.2025.01.040.
- [4] KOTSIFA E, SAFFIOTI F, MAVROEIDIS V K. Cholangiocarcinoma: the era of liquid biopsy[J/OL]. *World J Gastroenterol*, 2025, 31(11): 104170[2025-10-15]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/40124277/>. DOI:10.3748/wjg.v31.i11.104170.
- [5] 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.
- [6] GIRON-MICHEL J, PADELLI M, OBERLIN E, *et al.* State-of-the-art liver cancer organoids: modeling cancer stem cell heterogeneity for personalized treatment[J]. *BioDrugs*, 2025, 39(2): 237-260. DOI:10.1007/s40259-024-00702-0.
- [7] VAN TIENDEREN G S, ROSMARK O, LIESHOUT R, *et al.* Extracellular matrix drives tumor organoids toward desmoplastic matrix deposition and mesenchymal transition[J]. *Acta Biomater*, 2023, 158: 115-131. DOI:10.1016/j.actbio.2022.11.038.
- [8] CHEN H Q, XIAO X, LUI W Y, *et al.* Vangl2 regulates spermatid planar cell polarity through microtubule (MT)-based cytoskeleton in the rat testis[J/OL]. *Cell Death Dis*, 2018, 9(3): 340[2025-10-15]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29497043/>. DOI: 10.1038/s41419-018-0339-x.
- [9] DALL'AGNESE G, DALL'AGNESE A, BANANI S F, *et al.* Role of condensates in modulating DNA repair pathways and its implication for chemoresistance[J/OL]. *J Biol Chem*, 2023, 299(6): 104800[2025-10-15]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37164156/>. DOI:10.1016/j.jbc.2023.104800.
- [10] JIANG T Y, CUI X W, ZENG T M, *et al.* PTEN deficiency facilitates gemcitabine efficacy in cancer by modulating the phosphorylation of PP2Ac and DCK[J/OL]. *Sci Transl Med*, 2023, 15(704): eadd7464[2025-10-15]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/40124277/>. DOI:10.1126/scitranslmed.add7464.
- [11] MÖHRING C, FEDER J, MOHR R U, *et al.* First line and second line chemotherapy in advanced cholangiocarcinoma and impact of dose reduction of chemotherapy: a retrospective analysis[J/OL]. *Front Oncol*, 2021, 11: 717397[2025-10-15]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34858809/>. DOI:10.3389/fonc.2021.717397.
- [12] PAN Y R, WU C E, JUNG S M, *et al.* Mucin 4 confers gemcitabine resistance and an unfavorable prognosis in patients with cholangiocarcinoma *via* AKT activation[J]. *Int J Biol Sci*, 2023, 19(9): 2772-2786. DOI:10.7150/ijbs.79126.
- [13] PERERA S, JANG G H, WANG Y F, *et al.* hENT1 expression predicts response to gemcitabine and nab-paclitaxel in advanced pancreatic ductal adenocarcinoma[J]. *Clin Cancer Res*, 2022, 28(23): 5115-5120. DOI:10.1158/1078-0432.CCR-22-2576.
- [14] WANG Y Q, XIANG X, CHEN H D, *et al.* Intratumoral erythroblastic islands restrain anti-tumor immunity in hepatoblastoma[J/OL]. *Cell Rep Med*, 2023, 4(5): 101044[2025-10-15]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37196629/>. DOI: 10.1016/j.xcrm.2023.101044.
- [15] THOREL L, PERRÉARD M, FLORENT R, *et al.* Patient-derived tumor organoids: a new avenue for preclinical research and precision medicine in oncology[J]. *Exp Mol Med*, 2024, 56(7): 1531-1551. DOI:10.1038/s12276-024-01272-5.
- [16] CALVISI D F, BOULTER L, VAQUERO J, *et al.* Criteria for preclinical models of cholangiocarcinoma: scientific and medical relevance[J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2023, 20(7): 462-480. DOI:10.1038/s41575-022-00739-y.
- [17] KRENDL F J, PRIMAVESI F, OBERHUBER R, *et al.* The importance of preclinical models for cholangiocarcinoma drug discovery[J]. *Expert Opin Drug Discov*, 2025, 20(2): 205-216. DOI: 10.1080/17460441.2025.2457637.
- [18] REN X X, HUANG M L, WENG W X, *et al.* Personalized drug screening in patient-derived organoids of biliary tract cancer and its clinical application[J/OL]. *Cell Rep Med*, 2023, 4(11): 101277[2025-10-15]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37944531/>. DOI: 10.1016/j.xcrm.2023.101277.
- [19] KHORSANDI D, YANG J W, FOSTER S, *et al.* Patient-derived organoids as therapy screening platforms in cancer patients[J/OL]. *Adv Healthc Mater*, 2024, 13(21): e2302331[2025-10-15]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38359321/>. DOI:10.1002/adhm.202302331.
- [20] CAI H W, TIAN C H, CHEN L, *et al.* Vascular network-inspired diffusible scaffolds for engineering functional midbrain organoids[J/OL]. *Cell Stem Cell*, 2025, 32(5): 824-837.e5[2025-10-15]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/40101722/>. DOI:10.1016/j.stem.2025.02.010.

[收稿日期] 2025-04-20

[修回日期] 2025-10-15

[本文编辑] 陈怡宁, 黄静怡