中国临床医学
Chinese Journal of Clinical Medicine
ISSN 1008-6358
CN 31-1794/R

肝外胆管癌类器官的建立及影响因素分析

巩子君, 刘佳颖, 范坤, 沈盛, 邱文青, 罗轩明, 刘厚宝

引用本文:
巩子君, 刘佳颖, 范坤, 等. 肝外胆管癌类器官的建立及影响因素分析[J]. 中国临床医学, 2025, 32(4): 604-609.
GONG Z J, LIU J Y, FAN K, et al. Establishment and related factors analysis of extrahepatic cholangiocarcinoma organoids[J]. Chin J Clin Med, 2025, 32(4): 604-609.

在线阅读 View online: https://doi.org/10.12025/j.issn.1008-6358.2025.20250081

DOI：10.12025/j.issn.1008-6358.2025.20250081
CSTR：32417.14.j.issn.1008-6358.2025.20250081

·论 著·

肝外胆管癌类器官的建立及影响因素分析

巩子君[1,2,3]，刘佳颖[1,2,3]，范 坤[4,5]，沈 盛[1,2,3]，邱文青[4,5]，罗轩明[4,5]，刘厚宝[1,2,3,4,5*]
1. 复旦大学附属中山医院胆道外科, 上海 200032
2. 复旦大学胆道疾病研究所, 上海 200032
3. 上海胆道微创及材料工程中心, 上海 200032
4. 上海市徐汇区中心医院普外科, 上海 200032
5. 上海市徐汇区中心医院中心实验室, 上海 200032

［摘要］ **目的** 建立肝外胆管癌（extrahepatic cholangiocarcinoma, ECC）类器官，探讨影响类器官构建成功的因素。**方法** 从肝门胆管癌和远端胆管癌患者的肿瘤样本中分离细胞，采用三维培养技术建立 ECC 类器官。采用苏木精-伊红（hematoxylin-eosin, HE）、免疫组织化学染色对类器官进行组织学特征的评估和鉴定。比较不同肿瘤类型类器官构建的成功率，以及培养成功与失败患者的临床特征。**结果** 肝门胆管癌和远端胆管癌的类器官成功率偏低，分别为42.4%（14/33）、51.9%（14/27）。培养成功患者的肿瘤大于培养失败患者（$P<0.001$）；培养成功与失败患者肿瘤分化程度、脉管侵犯、神经侵犯差异无统计学意义。**结论** ECC 类器官培养成功率较低，较大肿瘤类器官培养成功率较高。

［关键词］ 肝外胆管癌；类器官；培养成功率；影响因素
［中图分类号］ R 735.8 ［文献标志码］ A

Establishment and related factors analysis of extrahepatic cholangiocarcinoma organoids

GONG Zijun[1,2,3], LIU Jiaying[1,2,3], FAN Kun[4,5], SHEN Sheng[1,2,3], QIU Wenqing[4,5], LUO Xuanming[4,5], LIU Houbao[1,2,3,4,5*]
1. Department of Biliary Surgery, Zhongshan Hospital, Fudan University, Shanghai 200032, China
2. Biliary Tract Disease Institute, Fudan University, Shanghai 200032, China
3. Shanghai Engineering Research Center of Biliary Tract Minimal Invasive Surgery and Materials, Shanghai 200032, China
4. Department of General Surgery, Shanghai Xuhui Central Hospital, Shanghai 200032, China
5. Department of Central Laboratory, Shanghai Xuhui Central Hospital, Shanghai 200032, China

［**Abstract**］ **Objective** To establish a cell bank of extrahepatic cholangiocarcinoma (ECC)-derived organoids and investigate the key factors influencing the organoids generation. **Methods** The tumor samples from patients with portal cholangiocarcinoma (pCCA) and distal cholangiocarcinoma (dCCA) were used to isolate cells, and these cells were cultured using three-dimensional (3D) technique to establish ECC organoids. Histological characteristics of the organoids were evaluated and identified through hematoxylin-eosin (HE) and immunohistochemistry stainings. The success rates of organoids generation from different tumor types were compared. And clinical characteristics of patients between successful and failure culture groups were compared. **Results** The success rates of organoids establishment from pCCA and dCCA were all low, with 42.4% (14/33), 51.9% (14/27), respectively. The tumor was larger in successful group than that in failure group ($P<0.001$); there was no statistical difference in tumor differentiation status, microvascular invasion, and perineural invasion between the two groups. **Conclusions** The successful rate of ECC-derived organoids establishment is low, and larger tumor has higher successful culture rate.

［**Key Words**］ extrahepatic cholangiocarcinoma; organoid; culture success rate; influence factor

胆管癌是一种起源于胆管上皮细胞的恶性肿瘤，临床上主要分为两大类型：肝内胆管癌（intrahepatic cholangiocarcinoma, ICC）和肝外胆管癌（extrahepatic cholangiocarcinoma, ECC）[1]。

［收稿日期］ 2025-01-22 ［接受日期］ 2025-04-07
［基金项目］ 上海市科学技术委员会项目 (21JC1401200). Supported by Program of Shanghai Municipal Science and Technology Commission (21JC1401200).
［作者简介］ 巩子君，博士，主治医师. E-mail: gong.zijun@zs-hospital.sh.cn
*通信作者 (Corresponding author). Tel: 021-64041990, E-mail: liu.houbao@zs-hospital.sh.cn

其中，ECC 侵袭性更强、治疗反应更差，患者生存期更短[2]。因此，近年来，ECC 的早期诊断、靶向治疗及预后预测模型成为研究热点。

传统模型（如细胞系、动物模型等）难以真实反映患者肿瘤的组织结构、分子特征和药物反应[3]。而类器官模型不仅能保留原组织的遗传信息和组织结构，且可在较短时间内生长，同时传代稳定、成本低，能用于高通量药物筛选，预测并制定个体化治疗方案[4-5]。

目前，类器官技术已广泛应用于多种类型的癌症模型研究，如肝癌、结直肠癌、乳腺癌和肺癌[6-8]。该技术在胆管癌中的应用目前多集中于 ICC[9-12]，针对 ECC 类器官的研究鲜见。ECC 与 ICC 的组织结构、分子生物学特征及患者临床表现均存在差异。因此，有必要建立 ECC 的类器官模型。本研究旨在探讨 ECC 类器官的构建及影响因素。

1　材料与方法

1.1　*ECC 样本的收集*　选择复旦大学附属中山医院 2022 年 6 月—2023 年 4 月手术切除的 ECC 组织。获取新鲜离体标本，放置于装有临时保存液（如 DMEM）的冰盒中，在 30 min 内转运至实验室处理。

1.2　*ECC 类器官的分离与培养*　提前配置好消化缓冲液，预热至 26 ℃。将离体标本切成小块并剪碎，加入消化缓冲液，37 ℃ 下消化 1～2 h；500×*g* 离心 30 min，弃上清，1 mL PBS 清洗；再次以 500×*g* 离心 30 min，弃上清，置于冰上备用。

提前配置好 Matrigel（Corning），并在冰上预冷。每 5×10^3 个细胞加入 20 μL Matrigel，充分混匀，接种于 48 孔板，每孔接种 20 μL；细胞形成圆顶后，37 ℃ 孵化 15 min 使圆顶凝固；每孔加入 500 μL 提前配置好的类器官培养基，在含 5% CO_2 的 37 ℃ 培养箱中孵育。类器官培养基：Advanced DMEM/F12 为基础，1% 青霉素-链霉素双抗溶液（Gibco）、10 mmol/L HEPES（Gibco）、1% Glutamax（Gibco）、1∶50 B27 无血清培养添加剂（Gibco）、1∶100 N2 无血清培养添加剂（Gibco）、1.25 mmol/L N-乙酰半胱氨酸（Sigma）、10 mmol/L 烟酰胺（Sigma）、10 nmol/L 胃泌素 (Sigma)、50 ng/mL 重组人表皮生长因子（epidermal growth factor, EGF; Peprotech）、100 ng/mL 重组人成纤维细胞生长因子 10（fibroblast growth factor 10, FGF10; Peprotech）、5 mmol/L A83-01（Selleck）、10 mmol/L Forskolin（Selleck）、10 mmol/L Y-27632（Selleck）。细胞每天定期观察，培养 7～10 d。类器官生长稳定后，可传代：弃培养液，加入 TrypLE（Gibco）充分混合，孵育 15 min 后，以 2 000×*g* 离心 3 min（可重复）；置于冰上，加入 Matrigel，重复前述步骤进行培养。

1.3　*苏木精-伊红（hematoxylin-eosin, HE）和免疫组化染色*　采用 5 μm 厚度石蜡包埋切片；切片经脱蜡和水合处理后，进行 HE 染色。免疫组化染色：将切片置于 EDTA 钠溶液中进行抗原修复，20% 山羊血清封闭 30 min 以减少非特异性染色；用抗细胞角蛋白 7（CK7）抗体（1∶1 000，Abcam）和抗 CK19 抗体（1∶2 000，Abcam）4°C 孵育过夜；用 HRP 标记的二抗室温孵育 30 min，DAB 显色，显微镜观察并拍照。

1.4　*统计学处理*　采用 SPSS 28.0 和 GraphPad Prism 9.0 软件进行数据处理。计数资料以 *n*(%) 表示，组间比较采用卡方检验、Fisher 确切概率法。统计分析中未排除任何数据点。检验水准（α）为 0.05。

2　结　果

2.1　*ECC 类器官培养成功率*　收集 60 个恶性肿瘤样本，成功培养 28 个类器官（46.7%）。28 个类器官生长稳定，经过 3 个月多次传代后仍保持活力。肝门胆管癌和远端胆管癌培养成功率相似，分别为 42.4%（14/33）、51.9%（14/27）。对构建成功的原发肿瘤组织进行病理分析，肝门胆管癌和远端胆管癌均以腺癌为主，分别为 92.9%（13/14）、100.0%（14/14），且分化程度以Ⅱ、Ⅲ级为主；各分化程度 ECC 均能成功构建类器官（表 1）。

2.2　*ECC 类器官形态学*　光学显微镜下，ECC 类器官形态不一，呈现球状的囊泡样结构或不规则的腺状结构（图 1）。肝门胆管癌和远端胆管癌

的类器官形态无明显差别。HE 和免疫组化染色（图 2）显示，类器官表达 ECC 特异性的胆管上皮标志物 CK19 和 CK7。

表 1 成功构建类器官的原发肿瘤的分化程度

Table 1 The differentiation degrees of primary tumors with successful cultural organoids

n(%)

Grade	pCCA (*n*=14)	dCCA (*n*=14)
Ⅰ	1(7.1)	3(21.4)
Ⅱ	9(64.4)	4(28.6)
Ⅲ	3(21.4)	7(50.0)
Ⅳ	1(7.1)	0

pCCA: portal cholangiocarcinoma; dCCA: distal cholangiocarcinoma.

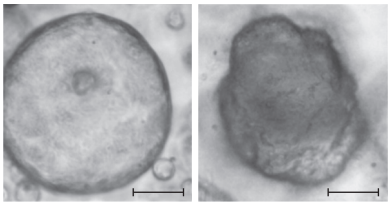

图 1 ECC 类器官显微镜下形态

Figure 1 Microscopic morphological features of ECC-derived organoids

ECC: extrahepatic cholangiocarcinoma. Scale bar=100 μm.

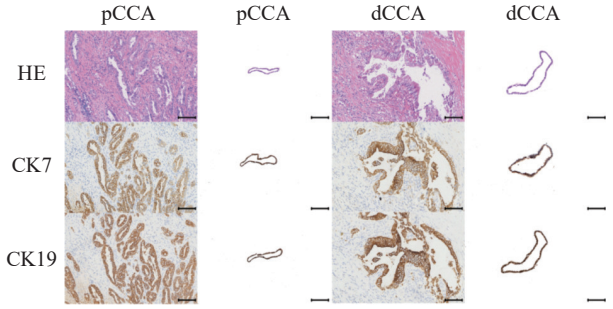

图 2 肝门胆管癌和远端胆管癌组织及类器官 HE 和免疫组化染色

Figure 2 HE and immunohistochemistry stainings of pCCA and dCCA tissues and organoids

pCCA: portal cholangiocarcinoma; dCCA: distal cholangiocarcinoma; HE: hematoxylin-eosin. Scale bar=100 μm.

2.3 ECC 类器官培养失败细胞的特点 结果（图 3）显示：类器官培养失败时主要表现为细胞分散、稀疏，长时间培养后细胞难以聚集成球或成球细胞数较少。

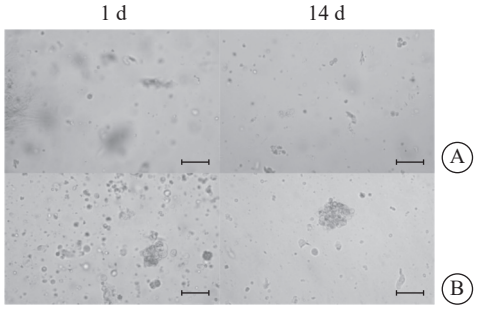

图 3 类器官培养失败 ECC 细胞的典型显微镜下表现

Figure 3 Typical microscopy images of ECC cells with failure cultural organoids

A: On day 1 post-digestion, the number of cells is small; even after 2 weeks of culture, no significant increase in cell numbers is observed. B: On day 1 post-digestion, number of cells is moderate; after 2 weeks of culture, the cells remain predominantly dispersed with minimal spheroid formation. ECC: extrahepatic cholangiocarcinoma. Scale bar=100 μm.

2.4 ECC 类器官培养失败与成功患者的临床特征比较 结果（表 2）显示：类器官培养成功患者的肿瘤更大（$P<0.001$）；两组患者肿瘤脉管侵犯、神经侵犯、分化程度等差异无统计学意义。

3 讨 论

类器官是一种从组织或肿瘤样本中提取细胞，用三维培养系统（如 Matrigel）培养模拟组织结构和功能的细胞培养模型。肿瘤类器官因能保留肿瘤原有生理结构成为近年来研究热点[13]。Yang 等[14]发现，肝癌类器官药敏结果与临床反应高度一致，且发现 c-Jun 是导致仑伐替尼耐药的主要因子。Ganesh 等[15]则发现，直肠癌类器官对化疗和放疗的反应与直肠癌患者临床反应一致。目前，类器官在胆管癌的研究主要集中在 ICC，如通过大规模药物筛选和药效分析，为 ICC 的治疗提供有效方案[9-12]。与 ICC 相比，ECC 发病率相对较低，肿瘤较小，较难获得肿瘤样本，且类器官构建易失败。

本研究采用 60 个 ECC 组织样本进行类器官培养，显示肝门胆管癌和远端胆管癌的类器官培养成功率分别为 42.4% 和 51.9%，表明 ECC 类器官的培养率较低。既往研究显示，膀胱浸润性肿瘤类器官形成率达 76%[16]，肺癌类器官形成率为

75.7%～88%[17-18]，乳腺癌类器官构建成功率为75%～87.5%[2, 19-21]，胰腺癌类器官成功率为75%～87%[22-23]。Lee等[24]用23个ICC样本培养类器官，16个成功（69.5%）。Broutier等[25]用6个胆囊癌样本进行类器官培养，其中1个活检来源的胆囊癌样本未培养成功；Saito等[26]对5个胆囊癌样本进行类器官培养，仅1个样本成功；国内Yuan等[27]对41个胆囊癌样本进行类器官培养，仅5个成功（12.2%）。这些研究表明，胆道肿瘤类器官的培养成功率差异较大，ICC类器官培养成功率高于ECC，目前原因尚不明确。胆道系统起源于前肠内胚层的突起性结构（肝憩室），其末端膨大，头支形成肝内胆管，尾部则形成肝外胆管。肝内外胆管在胚胎发育时期形成过程不同，可能是ICC和ECC类器官培养成功率差异较大的原因之一[28]。

表2　ECC类器官培养成功与失败患者的临床特征比较

Table 2　Comparison of clinical characteristics between patients with successful and failure cultural ECC organoids

n(%)

Index	Failed (*n*=32)	Successful (*n*=28)	*P*
Age			0.558
≤50 years	6(18.8)	7(25.0)	
>50 years	26(81.2)	21(75.0)	
Sex			0.496
Female	13(40.6)	9(32.1)	
Male	19(59.4)	19(67.9)	
Maximum tumor diameter			<0.001
<2 cm	20(62.5)	5(17.9)	
≥2 cm	12(37.5)	23(82.1)	
Nerve invasion			0.267
Yes	11(34.4)	6(21.4)	
no	21(65.6)	22(78.6)	
Microvascular invasion			0.753
Yes	9(28.1)	9(32.1)	
No	23(71.9)	19(67.9)	
Tumor differentiation			0.235
Ⅰ-Ⅱ	24(75.0)	17(60.7)	
Ⅲ-Ⅳ	8(25.0)	11(39.3)	

本研究发现，消化后ECC细胞数较少直接影响类器官的培养成功率。ECC细胞数较少的原因：（1）ECC体积较小，最大径多为1～2 cm，而ICC最大径远大于2 cm。本研究中类器官培养成功的肿瘤大于培养失败的肿瘤。（2）ECC样本主要用于病理诊断，可用于实验的部分很少。（3）ECC以基质成分居多，肿瘤细胞比例低，且以腺管状结构散在分布于基质内。（4）肿瘤间质纤维化明显，不易充分消化，难以获得足量细胞。曾云丽等[29]对结直肠癌类器官的研究发现，手术标本的培养成功率为76.5%，内镜活检标本为65.8%，提示样本大小及肿瘤细胞数量影响类器官培养成功率。

本研究中，每7～10 d对类器官进行传代，其生长稳定，培养3个月后仍保持形态稳定。但是，类器官长期培养过程中可能出现生长停止或减慢。本研究中，部分样本初始消化后细胞数较多，但培养一段时间后细胞难以聚集成球。这可能与培养基配方、基质稳定性及肿瘤细胞自身性质有关[30]。（1）目前ECC类器官培养缺乏标准配方。有文献[31]显示，在培养基中添加Noggin, 可以抑制骨形态发生蛋白（bone morphogenetic protein, BMP）信号通路，进而防止细胞过早分化，认为这是维持细胞未分化状态的关键。添加Nutlin-3a（MDM2抑制剂）可用于筛选Tp53突变的类器官；去除EGF和FGF10，可以筛选不依赖酪氨酸激酶受体（receptor tyrosine kinase, RTK）信号活化的类器官，如Kras突变类器官；去除外源Wnt，可以筛选Wnt信号通路突变的类器官[32]。本研究小部分类器官培养时分别添加上述因子，但因样本小效果待明确。（2）携带热点突变基因（如Tp53、Kras和Wnt）的肿瘤细胞可能因有更强的增殖能力和存活能力，类器官可长期培养[33]。（3）非肿瘤细胞成分（如基质细胞、免疫细胞、上皮细胞）的污染也影响类器官的长期培养[27]。这些正常细胞可能抑制肿瘤细胞的生长，影响类器官的形成和稳定。（4）类器官培养过程中可能出现遗传漂变，即细胞在培养过程中发生基因突变或表型变化，导致偏离原始肿瘤的遗传背景，影响类器官的长期培养和稳定。遗传漂变同时影响药物筛选[34]。

本课题组有以下ECC类器官培养经验及建

议。（1）获取新鲜高质量的组织样本对成功建立类器官至关重要：取样前备好转运培养基（通常是含抗生素的 DMEM/F12）并预冷；取样应在手术切除后立即进行，尽量缩短缺血时间；取多个不同区域的样本，提高培养成功率；取样后立即放入预冷的转运培养基，4 ℃ 条件下转运，并尽快处理。（2）取样过程中存在以下风险：胆管癌手术范围大，缺血时间常较长，这会影响细胞活性；取样部位可能存在胆汁污染，增加细菌感染风险；可能取到坏死或炎症组织。条件具备时，与病理医生共同取样，取缺血时间较短的组织，避开污染组织及坏死区域，有助于提高类器官培养成功率。

综上所述，ECC 类器官培养成功率相对 ICC 低，受肿瘤大小及样本质量的影响，也与肿瘤基因和培养基成分密切相关。未来应进行更大规模的研究，探讨影响类器官培养的因素，并开发新的培养技术和优化培养条件，以提高类器官培养成功率，进而为个体化治疗和药物筛选提供更好的体外模型。

伦理声明 本研究符合《赫尔辛基宣言》基本原则。

利益冲突 所有作者声明不存在利益冲突。

作者贡献 巩子君：实施研究，论文撰写；刘佳颖：实施研究，论文修改；范坤：实施研究，数据整理；沈盛：标本收集，标本管理；邱文青：文献查阅、论文修改；罗轩明：数据整理和分析；刘厚宝：论文设计、审核。

参考文献

[1] BRINDLEY P J, BACHINI M, ILYAS S I, et al. Cholangiocarcinoma[J]. Nat Rev Dis Primers, 2021, 7(1): 65.

[2] 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.

[3] QU J J, KALYANI F S, LIU L, et al. Tumor organoids: synergistic applications, current challenges, and future prospects in cancer therapy[J]. Cancer Commun (Lond), 2021, 41(12): 1331-1353.

[4] ROSSI G, MANFRIN A, LUTOLF M P. Progress and potential in organoid research[J]. Nat Rev Genet, 2018, 19(11): 671-687.

[5] LANCASTER M A, KNOBLICH J A. Organogenesis in a dish: modeling development and disease using organoid technologies[J]. Science, 2014, 345(6194): 1247125.

[6] FARIN H F, MOSA M H, NDRESHKJANA B, et al. Colorectal cancer organoid-stroma biobank allows subtype-specific assessment of individualized therapy responses[J]. Cancer Discov, 2023, 13(10): 2192-2211.

[7] GUILLEN K P, FUJITA M, BUTTERFIELD A J, et al. A human breast cancer-derived xenograft and organoid platform for drug discovery and precision oncology[J]. Nat Cancer, 2022, 3(2): 232-250.

[8] VAZQUEZ-ARMENDARIZ A I, TATA P R. Recent advances in lung organoid development and applications in disease modeling[J]. J Clin Invest, 2023, 133(22): e170500.

[9] MORIS D, PALTA M, KIM C, et al. Advances in the treatment of intrahepatic cholangiocarcinoma: an overview of the current and future therapeutic landscape for clinicians[J]. CA Cancer J Clin, 2023, 73(2): 198-222.

[10] SATO K, ZHANG W J, SAFARIKIA S, et al. Organoids and spheroids as models for studying cholestatic liver injury and cholangiocarcinoma[J]. Hepatology, 2021, 74(1): 491-502.

[11] ROOS F J M, VAN TIENDEREN G S, WU H Y, et al. Human branching cholangiocyte organoids recapitulate functional bile duct formation[J]. Cell Stem Cell, 2022, 29(5): 776-794. e13.

[12] MACIAS R I R, CARDINALE V, KENDALL T J, et al. Clinical relevance of biomarkers in cholangiocarcinoma: critical revision and future directions[J]. Gut, 2022, 71(8): 1669-1683.

[13] BALLARD D H, BOYER C J, ALEXANDER J S. Organoids - preclinical models of human disease[J]. N Engl J Med, 2019, 380(20): 1981-1982.

[14] YANG H, CHENG J H, ZHUANG H, et al. Pharmacogenomic profiling of intra-tumor heterogeneity using a large organoid biobank of liver cancer[J]. Cancer Cell, 2024, 42(4): 535-551. e8.

[15] GANESH K, WU C, O'ROURKE K P, et al. A rectal cancer organoid platform to study individual responses to chemoradiation[J]. Nat Med, 2019, 25(10): 1607-1614.

[16] MINOLI M, CANTORE T, HANHART D, et al.

Bladder cancer organoids as a functional system to model different disease stages and therapy response[J]. Nat Commun, 2023, 14(1): 2214.

[17] WANG H M, ZHANG C Y, PENG K C, et al. Using patient-derived organoids to predict locally advanced or metastatic lung cancer tumor response: a real-world study[J]. Cell Rep Med, 2023, 4(2): 100911.

[18] SHI R S, RADULOVICH N, NG C, et al. Organoid cultures as preclinical models of non-small cell lung cancer[J]. Clin Cancer Res, 2020, 26(5): 1162-1174.

[19] SACHS N, DE LIGT J, KOPPER O, et al. A living biobank of breast cancer organoids captures disease heterogeneity[J]. Cell, 2018, 172(1/2): 373-386. e10.

[20] WU H Z, WANG W W, ZHANG Y B, et al. Establishment of patient-derived organoids for guiding personalized therapies in breast cancer patients[J]. Int J Cancer, 2024, 155(2): 324-338.

[21] CHEN P, ZHANG X, DING R B, et al. Patient-derived organoids can guide personalized-therapies for patients with advanced breast cancer[J]. Adv Sci (Weinh), 2021, 8(22): e2101176.

[22] TIRIAC H, BUCOBO J C, TZIMAS D, et al. Successful creation of pancreatic cancer organoids by means of EUS-guided fine-needle biopsy sampling for personalized cancer treatment[J]. Gastrointest Endosc, 2018, 87(6): 1474-1480.

[23] NUCIFORO S, FOFANA I, MATTER M S, et al. Organoid models of human liver cancers derived from tumor needle biopsies[J]. Cell Rep, 2018, 24(5): 1363-1376.

[24] LEE H S, HAN D H, CHO K, et al. Integrative analysis of multiple genomic data from intrahepatic cholangiocarcinoma organoids enables tumor subtyping[J]. Nat Commun, 2023, 14(1): 237.

[25] BROUTIER L, MASTROGIOVANNI G, VERSTEGEN M M, et al. Human primary liver cancer-derived organoid cultures for disease modeling and drug screening[J]. Nat Med, 2017, 23(12): 1424-1435.

[26] SAITO Y, MURAMATSU T, KANAI Y E, et al. Establishment of patient-derived organoids and drug screening for biliary tract carcinoma[J]. Cell Rep, 2019, 27(4): 1265-1276. e4.

[27] YUAN B, ZHAO X F, WANG X, et al. Patient-derived organoids for personalized gallbladder cancer modelling and drug screening[J]. Clin Transl Med, 2022, 12(1): e678.

[28] STRAZZABOSCO M, FABRIS L. Development of the bile ducts: essentials for the clinical hepatologist[J]. J Hepatol, 2012, 56(5): 1159-1170.

[29] ZENG Y L, WANG S D, LI Y R, et al. Analysis of factors influencing the success rate of organoid culture in 1 231 cases of colorectal cancer[J]. Zhonghua Wei Chang Wai Ke Za Zhi, 2023, 26(8): 780-786.

[30] FUJII M, SHIMOKAWA M, DATE S, et al. A colorectal tumor organoid library demonstrates progressive loss of niche factor requirements during tumorigenesis[J]. Cell Stem Cell, 2016, 18(6): 827-838.

[31] DEKKERS J F, VAN VLIET E J, SACHS N, et al. Long-term culture, genetic manipulation and xenotransplantation of human normal and breast cancer organoids[J]. Nat Protoc, 2021, 16(4): 1936-1965.

[32] NANKI K, TOSHIMITSU K, TAKANO A, et al. Divergent routes toward Wnt and R-spondin niche independency during human gastric carcinogenesis[J]. Cell, 2018, 174(4): 856-869. e17.

[33] SEIDLITZ T, MERKER S R, ROTHE A, et al. Human gastric cancer modelling using organoids[J]. Gut, 2019, 68(2): 207-217.

[34] BLEIJS M, VAN DE WETERING M, CLEVERS H, et al. Xenograft and organoid model systems in cancer research[J]. EMBO J, 2019, 38(15): e101654.

［本文编辑］　姬静芳

引用本文

巩子君，刘佳颖，范　坤，等. 肝外胆管癌类器官的建立及影响因素分析[J]. 中国临床医学, 2025, 32(4): 604-609.

GONG Z J, LIU J Y, FAN K, et al. Establishment and related factors analysis of extrahepatic cholangiocarcinoma organoids[J]. Chin J Clin Med, 2025, 32(4): 604-609. DOI: 10.12025/j.issn.1008-6358.2025.20250081