

Organoidok a gasztroenterológiában

Átfogó áttekintés klinikusok részére

Maléth József dr.^{1,2,3}

¹Belgyógyászati Klinika, Szegedi Tudományegyetem, Szeged

²Lendület Eritél Sejt Szignalizáció és Szekréció Kutatócsoport, Szegedi Tudományegyetem, Szeged

³HCEMM-SZTE Molekuláris Gasztroenterológia Kutatócsoport, Szegedi Tudományegyetem, Szeged

Correspondence: jozsefmaeth1@gmail.com; maleth.jozsef@med.u-szeged.hu

Az organoidok olyan háromdimenziós (3D) sejttenyészetek, amelyeket pluripotens őssejtekből, felnőtt szöveti őssejtjeiből vagy akár daganatsejtekből hozhatnak létre. Az organoidokat felépítő sejtek önszerveződésének köszönhetően mikroszkopikus méretű, szervszerű struktúrák alakulnak ki, amelyek hitelesen reprezentálják a natív gasztrointesztinális szövetek kulcsfontosságú jellemzőit. Ezek a fejlett modellek megőrzik a sejt szintű sokféleséget, a szöveti architektúrát és a funkciókat, amelyek hiányoznak a hagyományos kétdimenziós sejttenyészetekből, ezáltal áthidalják a szakadékot az *in vitro* kísérletek és az *in vivo* élettani, illetve patológias folyamatok között, amelyek a betegek szervezetében lejátszódnak. Az összefoglaló célja, hogy a gasztroenterológusok és más klinikusok számára átfogó képet nyújtson a gasztrointesztinális organoidok gyorsan fejlődő területéről. Kitér az olyan alapvető részletekre, mint az organoidok fogalma és típusai, továbbá összefoglalja, miként hozhatók létre organoidmodellek a gasztrointesztinális traktus szöveteiből, valamint a májból és a hasnyálmirigyből. Szó esik továbbá az organoidok egyre hangsúlyosabb szerepéről a klinikai alkalmazások terén, ideértve alkalmazásukat a terápiás válaszok előrejelzésében (személyre szabott orvoslás), a gasztrointesztinális betegségek *in vitro* modellezésében kutatási és diagnosztikai célokra, valamint a regeneratív orvoslásban.

KULCSSZAVAK: organoidkultúrák, gasztrointesztinális betegségek, transzlációs kutatás, felnőtt őssejtek, *ex vivo* betegségmodellek

Organoid cultures in gastroenterology

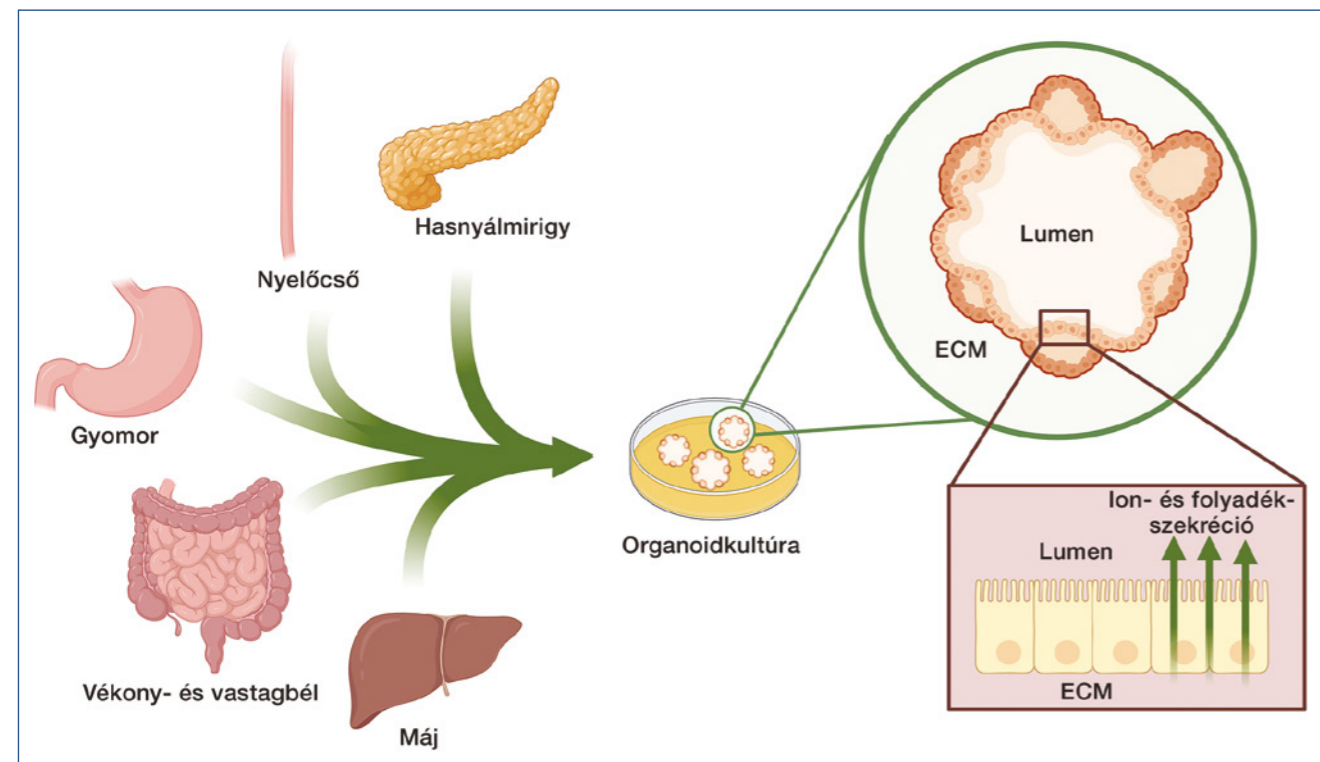
Organoids are three-dimensional (3D) cell culture systems derived from pluripotent stem cells, adult tissue stem cells, or even patient tumor cells, which self-organize into miniaturized, organ-like structures recapitulating key features of native gastrointestinal tissues. These advanced models preserve cellular diversity, architecture, and function absent in traditional two-dimensional cultures, bridging the gap between *in vitro* experiments and patient physiology. This review is intended to provide gastroenterologists and other clinicians with a comprehensive overview of the rapidly evolving field of gastrointestinal organoids. It covers foundational concepts such as organoid definitions and types, and summarizes the derivation of organoid models from gastrointestinal tissues (intestine and stomach) as well as from the liver and pancreas. The emerging role of organoids in clinical applications is also discussed in broad terms, including their use in predicting therapeutic responses (personalized medicine), modeling gastrointestinal diseases *in vitro* for research and diagnostics, and potential contributions to regenerative medicine.

KEYWORDS: organoid culture, gastrointestinal diseases, translational research, adult stem cells, *ex vivo* disease models

Bevezetés az organoidok típusaiba

Az organoidok olyan háromdimenziós (3D) sejtenyészetek, amelyeket összejtekből hozhatunk létre, és önszerveződésük révén képesek az eredeti kiindulási szerv szöveti architektúráját és funkcióját kialakítani *ex vivo* (1). Az organoidok különböző sejtforrásokból hozhatók létre, elsősorban (a) pluripotens összejtekből (embrionális összejtekből vagy indukált pluripotens összejtekből, iPSC-kből), (b) primer szövetekből nyert, felnőtt összejtekből, illetve (c) akár tumorsejtekből (2, 3). Az egyes sejtekből álló, egyszerűbb 3D-s aggregátumokkal (úgynevezett szferoidokkal) szemben, amelyek tipikusan extracelluláris mátrix nélküli, egy vagy több sejttípusból álló halmazok, az organoidok képesek az önszerveződésre és akár a többféle leszármazási vonalat is érintő differenciációra, továbbá olyan sejt komplexitásra és funkciók kialakítására, amelyek a natív szövetekhez hasonlóak (4). A 2D-s sejtkultúrákkal ellentétben az organoidok megőrzik a sejt polaritást, illetve a fiziológiai sejt-sejt és sejt-mátrix kölcsönhatásokat (5, 7). Az organoidok hosszú távon is fenntarthatók és „felszaporíthatók” *in vitro*, miközben megőrzik genetikai és fenotípusos stabilitásukat (8–10). Az organoidok humán szövetből is létrehozhatók, ami lehetővé teszi a humán-specifikus biológiai és patológiai vizsgálatokat az állatmodellekre jellemző, fajok közötti különbségek nélkül, ami jelentősen növeli az eredmények transzlációs potenciálját (1, 11) és alternatívát nyújt az állatkísérletekkel szemben a gyógyszertervezés és a toxikológia területén (12, 13).

1. ábra: A gasztrointesztinális traktusból létrehozható organoidkultúrák. Az elmúlt 15 évben a gasztrointesztinális traktus szinte minden szervéből sikerült humán organoidkultúrákat létrehozni. Az organoidok jellemzően egy sejtrétegből állnak, amelyet a polarizált epithelsejtek dominálnak. Az epithelreteg vektorialis ion- és folyadékszekréciója miatt az organoidok cisztikus formát vesznek fel (ECM: extracelluláris mátrix).



Az a képesség, hogy egy páciens saját sejtjeiből állítsunk elő organoidokat, lehetőséget teremt a személyre szabott orvoslásra, például a gyógyszerreakciók betegspecifikus vizsgálatára (14). Ezeknek köszönhetően 2017-ben az organoidok elnyerték a Nature Methods folyóiratban „Az év technológiája” címet, kiemelve hatásukat a biomedikális kutatásban (15).

Számos előnyös tulajdonságuk ellenére a jelenleg rendelkezésre álló organoidmodelleknek fontos limitációi vannak. A legtöbb organoidból hiányoznak a valódi szövetekben megtalálható, támogató mikrokörnyezeti komponensek, különösen az érhálózat, az immunsejtek és az idegek, ami megnehezíti a gyulladás, az immunválaszok vagy a tumor-immun kölcsönhatások modellezését (16). A vérellátás hiánya *in vitro* korlátozza a tápanyag- és oxigénzállítást, ami nagyobb organoidokban gyakran nekrotikus központok kialakulásához vezet, és korlátozza a hosszú távú növekedést vagy érést (17, 18). Emellett jelentős a variabilitás az organoidkultúrák létrehozásának protokolljaiban a laboratóriumok között, ami nehezíti a vizsgálatok standardizálását (1). Ezenkívül az iPSC-kből történő organoidgenerálás időigényes lehet (a differenciáció gyakran heteket-hónapokat igényel), és a hatékonyság változó, ami szintén variabilitáshoz és heterogén összetételű kultúrák kialakulásához vezet (1). A kutatók aktívan keresik a megoldásokat ezekre a kihívásokra, például szintetikus hidrogélek kialakításával, mikrofluidikai „organ-on-chip” rendszerekkel az organoidok perfúziójára, valamint több szövetet magukba foglaló organoid-kokultúrák létrehozásával, amelyek im-

mun- vagy stromális komponenseket is tartalmazhatnak (19). A jelenlegi korlátok ellenére az organoidtechnológia gyorsan fejlődik, és a következő években várhatóan más tudományterületekkel kombinálva fokozatosan leküzdözi a felsorolt akadályokat.

Összefoglalva: az organoidok összejtekből felépülő, önszerveződő 3D-s szövetrészek, amelyek hidat képeznek az egyszerű sejtvonalak és az állatmodellek között. Alkalmazásuk a kutatásokban jelentős transzlációs potenciállal bír, humán-releváns modelleket eredményez, amelyek számos potenciális előnnyel (genetikai és morfológiai megfelelés, személyre szabott betegségmodell, valamint technikai korláttal (hiányos mikrokörnyezet, érési és reprodukálhatósági problémák) bírnak, és a folyamatban lévő kutatás és innováció fókuszában állnak (20). A következő fejezetekben elsősorban a szövetspecifikus, felnőtt összejtekből és daganatsejtekből létrehozott organoidokra fókuszálunk, mivel ezek klinikai szempontból várhatóan nagyobb jelentőséggel bírnak majd a rövidebb tenyésztési és differenciálási idők, illetve az alacsonyabb humánforrás-igény miatt. Az alábbi fejezetekben részletesen bemutatjuk a gasztrointesztinális organoidok létrehozását különböző szövetekből (ideértve különböző daganattípusokat is), valamint a klinikai gyakorlatban betöltött, egyre hangsúlyosabb szerepüket.

Gasztrointesztinális organoidok típusai

A gasztrointesztinális (GI) traktusból, valamint a májból és a hasnyálmirigyből sikeresen hoztak létre *ex vivo* organoidkultúrákat az elmúlt 15 évben (1. ábra). Sato és munkatársai úttörő felfedezése, miszerint egyetlen *Lgr5+*, szövetspecifikus, felnőtt összejtekből *in vitro* körülmények között polarizált, cryptákat és villusokat kialakító, önmegújulásra képes organoidok hozhatók létre (21), útjára indította a technológia kiterjesztését gyakorlatilag az emésztőrendszer szinte minden régiójára (13, 22). A felnőtt összejtek felelnek a szövetek megújulásáért és a káros hatások utáni regenerációjáért. Az összejtek száma, aktivitása, osztódási kapacitása szövetenként eltérő: a bélrendszerben magas, míg a hasnyálmirigyben alacsonyabb, ami jól tükrözi a szervek fiziológiai sajátosságait. A kiindulási szövetminta származhat sebészi reszekátumból, endoszkópos biopsziákból (pl. duodenum, ileum, colon) vagy akár vékonytűbiopsziás mintákból is (2. ábra). Ez a fejezet összefoglalja a legfontosabb, GI-szervekből származtatott organoidokat, és részletezi egyedi jellegzetességeiket.

Vékony- és vastagbél-organoidok. Ahogy korábban leírtuk, a bélrendszer volt az első szerv, amelyből Sato és munkatársai sikeresen hoztak létre felnőtt összejtekből származó organoidokat. Egér vékonybélből izolált cryptastruktúrákat tenyésztettek 3D Matrigel-mátrixban, stimuláló faktorokat tartalmazó koktéllal (többek között Wnt, EGF, Noggin, R-spondin1), amely támogatja az *Lgr5+*, felnőtt összejtek proliferációját és az összejt-niche kialakulását (21). Az organoidtechnológiában általános, hogy a stimuláló faktorok leglényegesebb hatása a Wnt/ β -catenin jelátviteli út vonal aktivitásának fenntartása, ami az összejtek proliferációjának legfontosabb szabályzója (23). A

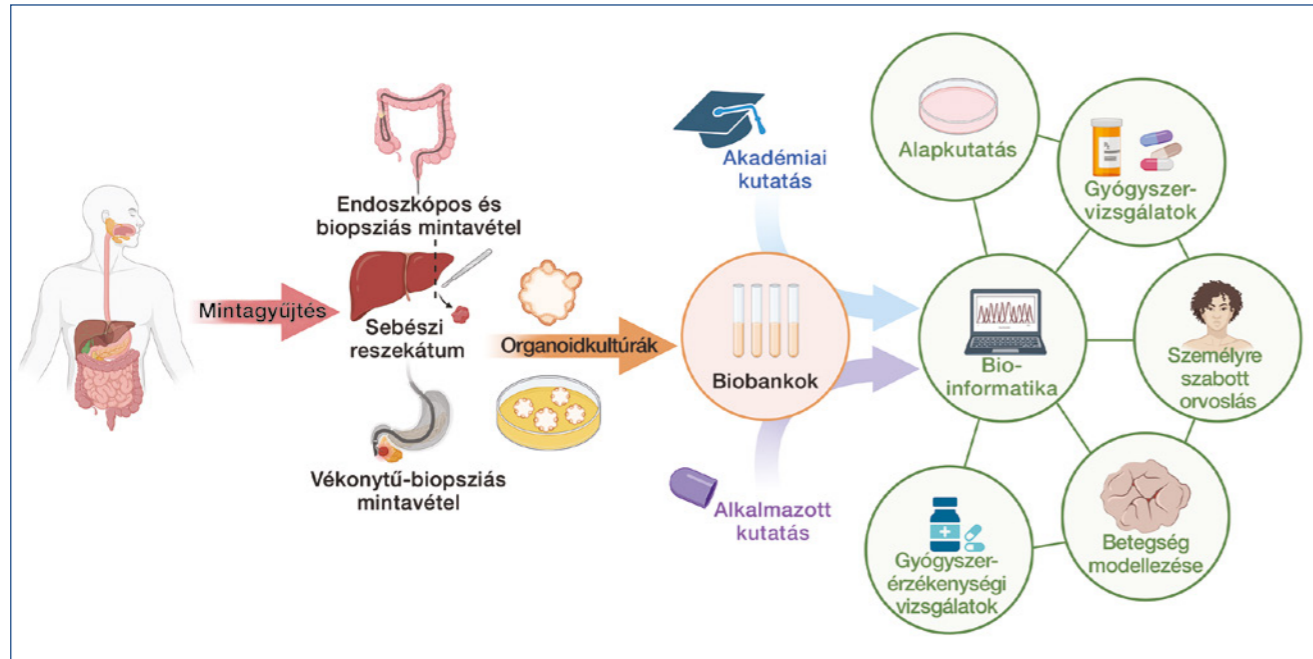
stimulus hatására az izolált crypták alsó részén található összejtek proliferációja megindult, és néhány napon belül cisztikus struktúrákat hoztak létre; ezekből cryptákra emlékeztető alakzatok indultak növekedésnek, amelyek tartalmazták a bél valamennyi fő sejttípusát (enterocyták, kehelysejtek, Paneth-sejtek és enteroendokrin sejtek), sőt központi lument is kialakítottak villuszerű epitheliummal (24). A tanulmány mérföldkőnek számít, hiszen demonstrálta, hogy egy szövetspecifikus, felnőtt összejt képes autonóm módon, *ex vivo* létrehozni saját szövetének sejt sokféleségét és térbeli szerkezetét mesenchymalis „niche” vagy keringés nélkül. A technikát 2011-ben sikerült átültetni a humán szövetekre is, amelynek során humán vastagbél-biopsziás mintákból és kolorektális tumorokból (adenoma és adenokarcinóma) hoztak létre organoidkultúrákat (25). Az ép szövetből létrehozott organoidok (a strukturális megfelelés mellett) jelentős genetikai stabilitást is mutattak. Fontos kiemelni, hogy még a daganatból származó organoidok is megőrizték a kiindulási tumor mutációit és hisztopatológiai jellemzőit a kultúrában.

Gyomororganoidok. 2010-ben Barker és munkatársai *Lgr5+*-összejteket izoláltak egér gyomormirigyeiből, és megfelelő növekedési faktorokkal, Matrigelben tenyésztve, 3D-s gyomororganoidokat hoztak létre (26). Ezek a gyomororganoidok hosszú távon fenntarthatók voltak; önmegújításra, többvonalú differenciációra voltak képesek; és érett gyomor-sejttípusokat hoztak létre, amelyek mirigyszerű struktúrákba rendeződtek. Ezt követte Bartfeld és munkatársai vizsgálata, akik humán gyomor-biopsziákból (mind fundus-, mind antrum régióból) állítottak elő organoidokat, és alkalmazták humán fertőzések modellezésére. A gyomororganoidok *H. pylori*-expozíciója hiperszekréciót váltott ki és gyulladással jellemző génekszintézis mintázatot hozott létre, hasonlóan ahhoz, amit a *H. pylori* által okozott gastritisben figyelhetünk meg (27). A gyomororganoidok gömbszerű struktúrákat alkotnak, polarizált hámréteggel, amely egy lumen köré szerveződik, és a jelátviteli modulálásával régióspecifikus morfológia és sejtszététel alakítható ki (28). Figyelemre méltó, hogy a gyomororganoidok kultúrában savat is képesek termelni hisztamin- és gasztrinstimuláció után, ami bizonyos esetekben a parietális sejtek funkcionális érését jelzi, bár a teljes savszekréció idegi stimuláció nélkül korlátozott (29).

Májorganoidok. A máj összetett szerv; többféle sejttípussal (hepatocyták, cholangiocyták, csillagsejtek, Kupffer-sejtek stb.) és nagy regenerációs kapacitással rendelkezik, azonban a májszövet esetében az organoidkultúrákban elsősorban a hepatocyták és a cholangiocyták jelennek meg. 2013-ban Huch és munkatársai sikeresen hoztak létre organoidkultúrákat felnőtt egér májából izolált, *Lgr5+*, epeúti progenitorsejtek felhasználásával (30). Az így létrejött májorganoidok elsősorban epeúti ductalis sejteket tartalmaztak, amelyek hepatocytára hasonlító sejtekké tudtak differenciálódni, hatékonyan modellezve azokat a regeneratív sejteket, amelyek májkárosodás után proliferációnak indulnak. Erre építve 2015-ben Huch és munkatársai felnőtt humán májszövetből (egészségesből és kórosból egyaránt) állítottak elő organoidokat (31).

2. ábra: A gasztrointesztinális traktusból létrehozható organoidkultúrák felhasználási lehetőségei.

A kiindulási minta lehet endoszkópos vizsgálat során vett biopszia, sebészi reszekátum vagy vékonytű-biopsziás minta. A létrehozott organoidokat az alapkutatási vizsgálatok, a kísérleti gyógyszerek tesztelése és a betegségmodellezés mellett olyan klinikai applikációkban is felhasználhatjuk, mint a személyre szabott medicina az egyéni gyógyszerhatások vizsgálatával vagy a regeneratív terápiás eljárások.



Hasnyálmirigy-organoidok. 2013-ban *Huch és munkatársai* felnőtt egér hasnyálmirigy-progenitor sejtjeit tenyésztették, amelyekből organoidkultúrák jöttek létre, a bél- és a máj-organoidokhoz koncepcionálisan hasonló módszerrel (32). A hasnyálmirigy-organoidok a májhoz hasonlóan a ductalis rendszerben megtalálható bipotens *Lgr5⁺*-sejteken alapulnak, amelyek bizonyos körülmények között ductalis és endokrin vonalak felé is képesek voltak differenciálódni (32). Nem sokkal ezután, 2015-ben *Boj és munkatársai* protokollt dolgoztak ki organoidok előállítására egér és humán hasnyálmirigyből, valamint a hasnyálmirigy ductalis adenokarcinómájából (PDAC) egyaránt (33). A normál hasnyálmirigy-organoidok a ductalis rendszerre jellemző cisztikus organoidokat képeztek, és kifejezték a hasnyálmirigyre jellemző ductalis markereket (pl. *SOX9*) (34, 35). A hasnyálmirigy-organoidok különösen értékesek a hasnyálmirigy fejlődésének, illetve különböző betegségeinek (például a pancreatitis különböző formáinak) a tanulmányozásában (36–38). Emellett a betegmintákból létrehozott organoidok lehetővé teszik a PDAC korábban részletesebb vizsgálatát.

Organoidok a rákkutatásban. Az organoidtechnológia gyorsan teret nyert a rákkutatásban, kiaknázva a betegspecifikus tumormodellek kínálta előnyöket. Az organoidkultúrák megőrzik a daganat komplexitását, miközben lehetővé teszik a laboratóriumi kísérletes manipulációt. A hagyományos, immortalizált, adherens tumorsejtvonalak gyakran nem képesek visszaadni a valós daganatok heterogenitását és 3D-s növekedési mintázatait (39). Ezzel szemben a betegből származtatott tumororganoidok megőrizhetik az eredeti tumorszövet architektúráját, genetikai heterogenitását és celluláris komplexitását (40).

A malignus gasztrointesztinális daganatok kontextusában az organoidok lehetővé teszik a humán-releváns tumorbiológia tanulmányozását, a gyógyszer-szenzitivitás tesztelését, sőt immunsejtekkel kokultúrát létrehozva akár az immunterápiás vizsgálatokat is. A normál organoidok tenyésztésére kidolgozott módszereket optimalizálva nagyobb tumorfragmentek vagy biopsziák is növeszthetők *ex vivo* (41). Figyelemre méltó, hogy a betegből származtatott tumororganoidokban is jelen vannak az eredeti tumor onkogén mutációi; megőrzik a daganat genetikai hátterét, és gyakran a hisztológiai jellegzetességeket is (42).

Az organoidok klinikai alkalmazási lehetőségei

Bár az organoidokkal kapcsolatos kutatások még nagyrészt kísérleti fázisban vannak, a gasztroenterológiában egyre tágabb lehetőségek nyílnak a kutatások translációs jellegű kiterjesztésére. Ebben a fejezetben azt tárgyaljuk, milyen lehetőségeket kínálhatnak az organoidok a jövőben a klinikai gyakorlatban a gasztroenterológusok és onkológusok számára – például a terápiás válaszok előrejelzésére, precíziós diagnosztikai célú betegségmodellezésre vagy regeneratív szöveti terápiára (2. ábra).

Személyre szabott orvoslás és terápiás válasz előrejelzése

A betegmintákból létrehozott tumororganoidokat egyre kiterjedtebben vizsgálják az onkológiában mint a személyre szabott terápia kialakításának lehetséges eszközeit (3. ábra). A témával foglalkozó első tanulmányok 2018-ban

jelentek meg; ezekben (a leghatékonyabb gyógyszerkombinációk azonosítása céljából) a betegekből létrehozott organoidkultúrákat különböző kombinációjú kemoterápiás szerekkel kezelték *ex vivo*, és összehasonlították a betegkohorsszal, akikből az organoidokat létrehozták (43, 44). Ezeket több másik tanulmány követte, elsősorban a kolorektális daganat és a PDAC-betegek bevonásával, amelyek rávilágítanak arra, hogy a daganatokból létrehozott organoidok nemcsak a tumor fenotipikus jellemzőit utánozzák, hanem a rákos sejtek gyógyszerérzékenységéről is értékes adatokat szolgáltathatnak. Egy kiterjedt multicentrikus vizsgálatban *Vlachogiannis és munkatársai* összehasonlították a különböző gasztrointesztinális tumorokat, és igazolták, hogy az organoidok és az eredeti tumorszövet között nagymértékű a geno- és fenotipikus azonosság (43). Ezután prospektív módon hasonlították össze az organoidok *in vitro* gyógyszerérzékenységét a xenotranszplantált tumormintákkal (egérbe ültetett, primer, humán tumor), és a daganatos betegek klinikai válaszával. Eredményeik alapján a klinikai válasz és az *in vitro* gyógyszerérzékenység jelentős átfedést mutatott. Egy másik vizsgálatban *Ooft és munkatársai* kolorektális daganatokat vizsgáltak, amely alapján azonosítani tudták a kezelésre nem reagáló betegeket az *in vitro* eredmények alapján (44). A vizsgálatban a betegek 80%-ában prediktív értékűnek bizonyult az organoidalapú szűrés az irinotecannal kezelt betegek esetében, azonban az 5-FU és oxaliplatin kombinációjával kezelt csoportban nem volt prediktív, ami rávilágít az esetleges limitációkra is. Ezt a megközelítést később sikerrel alkalmazták különböző malignitásokban, többek közt a kolorektális, a gyomor- és más GI-daganatokban is. Egy metasztatikus, GI-tumorokon végzett vizsgálat szerint az organoidalapú tesztelés 100% érzékenységgel és 93% specificitással (88% pozitív prediktív érték mellett) jelezte előre a válaszadókat a nem válaszolókkal szemben (45, 46). Végbélrákban a betegből származtatott organoidokat használták neoadjuváns kezelésekre tesztelésére, és *in vitro* válaszprofiljaik szignifikáns korrelációt mutattak a betegek patológiai és klinikai válaszával (47). Vizsgálatok kimutatták továbbá, hogy a HER2-pozitív gyomorrák esetében a

célt HER2-gátló terápia trastuzumabbal szintén hatékony a biopsziákból származó organoidok esetén, amely így alkalmas lehet a terápiás hatás előrejelzésére is (45). A terápia predikciója mellett az organoidokat sikeresen alkalmazzák új terápiás lehetőségek tesztelésére, mint például a HER2-ellenes antitestek génbevitellel történő kifejezése (48). Ehhez hasonlóan a kolorektális daganatokban a ritka mutációt hordozó organoidok (például *BRAF V600E* mutáció) alkalmasak lehetnek *BRAF*-gátlók tesztelésére és a terápia „off-label” indikációjának alátámasztására (46). Egy innovatív megközelítés a kokultúrák létrehozása tumororganoidok és autológ immunsejtek vagy limfocyták felhasználásával a betegspecifikus immunellenőrző-pontgátló-terápia vagy T-sejt-alapú terápiák vizsgálatára (49). Egy komplex kísérletes modellben a mikroszatellitainstabilitást mutató kolorektális daganatokat vizsgálták: betegekből származó daganatos organoidokat ültettek át egerekbe az immunellenőrző-pontgátlók hatásának vizsgálatához (50). A vizsgálat során az immunellenőrző-pontgátló-terápia jelentősen csökkentette a primer tumor növekedését és a májmetasztázisok képződését, azonban nem befolyásolta a peritonealis metasztázisok kialakulását. Ezek a teljesség igénye nélkül bemutatott példák jól szemléltetik, hogy az organoidok kiemelkedően hasznosak lehetnek a jövőben a klinikai döntéshozatal támogatásában. Szintén fontos, hogy az organoidok létrehozásához szükséges idő is reálisra teszi ezt a forgatókönyvet, hiszen egy minta létrehozásához és a vizsgálatok elvégzéséhez jelenleg 2–3 hét szükséges. Természetesen a módszer elterjedésének a klinikai rutinban számos limitációja is van, amit a későbbiekben részletezünk.

Az organoidok mint betegségmodellek

A betegek biopsziájából előállított organoidok nemcsak a rosszindulatú betegségek jellemzőit képesek visszatükrözni, hanem a más gyomor-bél rendszeri rendellenességeket is. Ezáltal személyre szabott betegségmodelleket kínálnak, amelyek kutatási célokra, sőt akár diagnosztikai vizsgálatokhoz is felhasználhatók. Például

3. ábra: Személyre szabott terápia az organoidkultúrák segítségével. A jelenlegi klinikai gyakorlatban a terápiás döntések az evidenciákra alapuló irányelvek (EBM) szerint történnek, aminek köszönhetően a betegek jelentős része a számukra leghatékonyabb terápiában részesül. Azonban vannak egyéni eltérések, ami miatt a betegek egy része nem hatékony kezelést kap. Az organoidokkal elvégzett *ex vivo* gyógyszerhatékonysági vizsgálatok révén megvalósítható lehet az egyedi eltérések azonosítása és a kezelés személyre szabása.



a familiáris adenomatosus polyposisban (FAP) szenvedő páciensekből (akik csíravonali APC-mutációt hordoznak) létrehozott vastagbél-organoidok alkalmasak a polipeptidképződés korai molekuláris folyamatainak *in vitro* tanulmányozására, valamint a betegség progresszióját lassító terápiák tesztelésére közvetlenül a betegekből származó szöveten, amihez nincs szükség állatmodellekre (51). Egy másik példa a ritka betegségek modellezésére a májorganoidok használata genetikai eredetű májbetegségek (például az alfa-1-antitripszin- [AAT-] hiány vagy az *Alagille-szindróma*) tanulmányozásában (52, 53). A *SERPINA1* gén klinikailag releváns mutációi, például a *Z (Glu342Lys)*, hibás konformációval rendelkező AAT-fehérje kifejeződését eredményezik, amely fokozott hajlammal mutat a polimerizációra, felhalmozódik a hepatocytákban, és így növeli a hepatocytákárosodás és az ebből következő májbetegség kockázatát. Ezek a jelenségek (mint a hibás fehérje intracelluláris aggregációja vagy az AAT-fehérje alacsonyabb szekréciója) kimutathatók voltak az AAT-hiányos betegekből létrehozott organoidokban. Gyulladásos kórképekben, különösen krónikus gyulladással járó betegségekben nem nyilvánvaló az organoidok haszna a betegség modellezésében, hiszen az epithelsejteket a gyulladásos mikrokörnyezetből eltávolítjuk, aminek a hatására a gyulladási fenotípus reverzibilis elemei elveszhetnek. Ezzel szemben számos tanulmány utal arra, hogy például az epithelsejtek epigenetikai változásai fennmaradnak az organoid kultúrában (54), ami arra utal, hogy alkalmasak lehetnek a terápiás válasz *in vitro* vizsgálatára (55). Egy friss tanulmányban a Tofacitinib Munkacsoport tagjai kimutatták, hogy IBD-s páciensekből származó organoidok egy része csökkent érzékenységet mutatott a tofacitinibbel szemben, amit a csökkent STAT1-foszforiláció-gátló hatás és a sejtek csökkent életképessége alapján mértek citokinstimuláció során (56). Az organoidok tofacitinib iránti érzékenysége előre jelezte az egyes betegek klinikai válaszát, ami korrelációt mutatott a tofacitinib felvételét szabályzó MATE1 (cationic transporter multidrug and toxin extrusion protein 1) csökkent szintjével az organoidokban. A GI-organoidok a host-patogén kölcsönhatások vizsgálatában is fontos szerepet játszanak. Egy korábbi vizsgálatban humán gyomor- és duodenum-organoidok lumenébe mikroinjekcióval *Helicobacter pylori* injektáltak a fertőzés modellezésére, ami az *in vivo* válasszal ekvivalens változásokat indukált az organoidokban (27). Ebben a vizsgálatban a foveola gastrica sejtvonalai csak csekély mértékben reagáltak a bakteriális fertőzésre, míg a gyomormirigy-sejtvonalak erőteljes gyulladási választ adtak. A hasonló vizsgálatokat technikailag nehezíti, hogy az epithelsejtek apicalis felszíne az organoid lumene felé néz, így a zárt térben a közvetlen expozíció nehezen kivitelezhető. Ennek áthidalására továbbfejlesztették az organoidkultúrákat a sejt-polaritás manipulálásával, aminek során a sejtek apicalis felszíne kifordul és a tápközeg felé néz (57, 58). Ezek az „apical-out” organoidok megőrzik az apico-basalis polaritást és barrierfunkciót, képesek differenciálódni, és polarizált tápanyagfelszívódást mutatnak. Ez a modell jelentősen

megkönnyíti a host-patogén kölcsönhatások vizsgálatát. Felhasználásukkal jellegzetes, polaritáspecifikus fertőzési mintákat azonosítottak ismert enteropatogénnel történt fertőzés során. A *Salmonella enterica* serovar Typhimurium az epithelsejtek apicalis felszínének inváziójához a cytoskeletális átrendeződéseket használja ki, míg a *Listeria monocytogenes* a sejtek extrúziós helyein hatol be a sejtekbe (57). „Apical-out” organoidokat más szövetekből, például az exokrin hasnyálmirigyből is létrehozta már (35).

Kihívások és jövőbeli lehetőségek

Az organoidokon alapuló diagnosztikai és terápiás eljárások bevezetése a klinikai gyakorlatba számos kihívást rejt magában. Az organoidkultúrák létrehozása költséges, idő- és humán erőforrás-igényes feladat. Az automatizálás (például robotizált tenyésztőrendszerek) és a tenyésztési idő csökkentése (bioreaktorokkal és más módszerek alkalmazásával) terén elért előrelépések egyre inkább realitássá teszik ezt a lehetőséget. Bizonyos esetekben (például Hollandiában a CF-betegek esetében) az organoidtesztelés már a klinikai gyakorlat része; ezt központosított létesítmények támogatják, amelyek gyorsan képesek feldolgozni a páciensek mintáit (59). Az organoid-biobankok létrehozása lehetővé teszi nagyszabású gyógyszeres tesztek és genomikai elemzések elvégzését. *Ganesh és munkatársai* 65 fő, rektális karcinómában szenvedő páciensből származó mintából hoztak létre organoidkultúrákat, amelyek között volt primer tumor, recidíva és metasztázis. A vizsgálatban megfigyelték, hogy az organoidok *ex vivo* kezelésre adott válasza a klinikailag releváns kemoterápiára és sugárkezelésre szoros korrelációt mutatott az egyes páciensek esetében megfigyelt klinikai válaszokkal (60). A gyorsan változó szabályozási környezet is elősegíti az organoidalapú modellek széles körű alkalmazását a preklinikai kutatásban. Az Egyesült Államok Élelmiszer- és Gyógyszerügyi Hatósága (FDA) egy 2025-ben nyilvánosságra hozott tervezet alapján az állatkísérletek megkövetelésének fokozatos megszüntetése mellett döntött a monoklonális antitestek és más gyógyszerek esetében (61). Az FDA ettől a lépéstől a gyógyszerek biztonságának javulását és a vizsgálati folyamat felgyorsulását várja, miközben csökken az állatkísérletek száma. A gasztroenterológiában (az onkológiai alkalmazásokon és betegségmodellezésen kívül) az organoidok segíthetnek a gyógyszer által okozott toxicitás előrejelzésében is (62). Egy terápiás szer hepatotoxicitása humán májorganoidokon tesztelhető lehet, még mielőtt a klinikai vizsgálatok során derülne ki a káros hatás. Ezek az erőfeszítések ráadásul összhangban állnak a „3Rs”-el-vekel (replacement: kiváltás; reduction: csökkentés; refinement: finomítás), amelyek a kísérleti állatok jóllétének javítását szolgálják, és ma már világszerte az állatkísérletek etikájának alapját képezik (63). Fontos hangsúlyozni, hogy mind a kutatóknak, mind a klinikusoknak oktatásra van szükségük az organoidalapú vizsgálatok eredményeinek értelmezéséhez, mivel ezek nem binárisak, hanem valószínűségi jellegűek. Például mekkora mértékű sejt-

elhalás minősíthető olyan mértékű „válasznak” egy organoiddal végzett kemoterápia-érzékenységi tesztben, amely klinikai tumorcsökkenést jelez? A vizsgálatok és eredmények értelmezésének standardizálására jelenleg is komoly erőfeszítéseket tesznek a kutatók világszerte. További fontos szempont, hogy az organoidtenyésztési technikák laboratóriumi hátteret és képzett kutatói személyzetet igényelnek, ami jelenleg a legtöbb kórházban nem áll rendelkezésre.

Összefoglalva: az organoidok a laboratóriumi kutatásoktól a betegágy melletti alkalmazás irányába haladnak. A terápiás döntések optimalizálása a betegekből létreho-

zott organoidkultúrák segítségével összhangban áll a precíziós medicina jelenlegi trendjével, azaz a kezelések személyre szabásával a betegségének egyedi jellemzői alapján (64). Az organoidok új funkcionális dimenziót adhatnak a precíziós medicinához, kiegészítve a genomikai profilozást. A gasztroenterológiában sokoldalú platformot kínálnak a daganatos és gyulladásos betegségek, valamint a genetikai eltérések modellezéséhez, vizsgálatához és a terápiás döntések támogatásához. A biotechnológia fejlődésével a következő évtizedben az organoidkultúrák várhatóan egyre elérhetőbbé válnak a klinikai gyakorlat számára.

Irodalom

- Heinzmann E, Piraino F, Costa M, et al. iPSC-derived and Patient-Derived Organoids: Applications and challenges in scalability and reproducibility as pre-clinical models. *Curr Res Toxicol* 2024; 7: 100197. <https://doi.org/10.1016/j.crt.2024.100197>
- Yip S, Wang N, Sugimura R. Give Them Vasculature and Immune Cells: How to Fill the Gap of Organoids. *Cells Tissues Organs* 2023; 212(5): 369–382. <https://doi.org/10.1159/000529431>
- Xu Z, Yang J, Xin X, et al. Merits and challenges of iPSC-derived organoids for clinical applications. *Front Cell Dev Biol* 2023; 11: 1188905. Available at: <https://www.frontiersin.org/journals/cell-and-developmental-biology/articles/10.3389/fcell.2023.1188905/full> [Accessed September 11, 2025].
- Živković Z, Opačak-Bernardi T. An Overview on Spheroid and Organoid Models in Applied Studies. *Sci* 2025; 7: 27. <https://doi.org/10.3390/sci7010027>
- Giandomenico SL, Mierau SB, Gibbons GM, et al. Cerebral organoids at the air-liquid interface generate diverse nerve tracts with functional output. *Nat Neurosci* 2019; 22(4): 669–679. <https://doi.org/10.1038/s41593-019-0350-2>
- Kanton S, Boyle MJ, He Z, et al. Organoid single-cell genomic atlas uncovers human-specific features of brain development. *Nature* 2019; 574(7778): 418–422. <https://doi.org/10.1038/s41586-019-1654-9>
- Lee S-Y, Koo I-S, Hwang HJ, et al. In Vitro three-dimensional (3D) cell culture tools for spheroid and organoid models. *SLAS Discovery* 2023; 28(4): 119–137. <https://doi.org/10.1016/j.slasd.2023.03.006>
- Wang S, Wang X, Tan Z, et al. Human ESC-derived expandable hepatic organoids enable therapeutic liver repopulation and pathophysiological modeling of alcoholic liver injury. *Cell Res* 2019; 29(12): 1009–1026. <https://doi.org/10.1038/s41422-019-0242-8>
- Xiang Y, Tanaka Y, Cakir B, et al. hESC-Derived Thalamic Organoids Form Reciprocal Projections When Fused with Cortical Organoids. *Cell Stem Cell* 2019; 24(3): 487–497.e7. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2018.12.015>
- Cakir B, Xiang Y, Tanaka Y, et al. Engineering of human brain organoids with a functional vascular-like system. *Nat Methods* 2019; 16(11): 1169–1175. <https://doi.org/10.1038/s41592-019-0586-5>
- Yip S, Wang N, Sugimura R. Give Them Vasculature and Immune Cells: How to Fill the Gap of Organoids. *Cells Tissues Organs* 2023; 212(5): 369–382. <https://doi.org/10.1159/000529431>
- Lancaster MA, Knoblich JA. Organogenesis in a dish: modeling development and disease using organoid technologies. *Science* 2014; 345(6194): 1247125. <https://doi.org/10.1126/science.1247125>
- Kim J, Koo B-K, Knoblich JA. Human organoids: model systems for human biology and medicine. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2020; 21(10): 571–584. <https://doi.org/10.1038/s41580-020-0259-3>
- Dekkers JF, Wiegierick CL, Jonge HR de, et al. A functional CFTR assay using primary cystic fibrosis intestinal organoids. *Nat Med* 2013; 19(7): 939–945. <https://doi.org/10.1038/nm.3201>
- Anon. Method of the Year 2017: Organoids. *Nature Methods*. Available at: <https://www.nature.com/articles/nmeth.4575> [Accessed September 11, 2025].
- Schnalzer TE, Groot MH de, Zhang C, et al. 3D model for CAR-mediated cytotoxicity using patient-derived colorectal cancer organoids. *EMBO J* 2019; 38(12): e100928. <https://doi.org/10.15252/embj.2018100928>
- Yip S, Wang N, Sugimura R. Give Them Vasculature and Immune Cells: How to Fill the Gap of Organoids. *Cells Tissues Organs* 2023; 212(5): 369–382. <https://doi.org/10.1159/000529431>
- Wang Q, Yuan F, Zuo X, et al. Breakthroughs and challenges of organoid models for assessing cancer immunotherapy: a cutting-edge tool for advancing personalized treatments. *Cell Death Discov* 2025; 11(1): 222. <https://doi.org/10.1038/s41420-025-02505-w>
- Werschler N, Quintard C, Nguyen S, et al. Engineering next generation vascularized organoids. *Atherosclerosis* 2024; 398: 118529. <https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2024.118529>
- Alnasser SM. From gut to liver: organoids as platforms for next-generation toxicology assessment vehicles for xenobiotics. *Stem Cell Research & Therapy* 2025; 16(1): 150. <https://doi.org/10.1186/s13287-025-04264-y>

- Sato T, Vries RG, Snippert HJ, et al. Single Lgr5 stem cells build crypt-villus structures *in vitro* without a mesenchymal niche. *Nature* 2009; 459(7244): 262–265. <https://doi.org/10.1038/nature07935>
- Simian M, Bissell MJ. Organoids: A historical perspective of thinking in three dimensions. *J Cell Biol* 2017; 216(1): 31–40. <https://doi.org/10.1083/jcb.201610056>
- Nusse R, Clevers H. Wnt/β-Catenin Signaling, Disease, and Emerging Therapeutic Modalities. *Cell* 2017; 169(6): 985–999. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2017.05.016>
- Zhang M, Liu Y, Chen Y-G. Generation of 3D human gastrointestinal organoids: principle and applications. *Cell Regeneration* 2020; 9: 6. <https://doi.org/10.1186/s13619-020-00040-w>
- Sato T, Stange DE, Ferrante M, et al. Long-term expansion of epithelial organoids from human colon, adenoma, adenocarcinoma, and Barrett's epithelium. *Gastroenterology* 2011; 141(5): 1762–1772. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2011.07.050>
- Barker N, Huch M, Kujala P, et al. Lgr5(+ve) stem cells drive self-renewal in the stomach and build long-lived gastric units *in vitro*. *Cell Stem Cell* 2010; 6(1): 25–36. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2009.11.013>
- Bartfeld S, Bayram T, Wetering M van de, et al. *In vitro* expansion of human gastric epithelial stem cells and their responses to bacterial infection. *Gastroenterology* 2015; 148(1): 126–136.e6. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2014.09.042>
- Stange DE, Koo B-K, Huch M, et al. Differentiated Troy+ chief cells act as reserve stem cells to generate all lineages of the stomach epithelium. *Cell* 2013; 155(2): 357–368. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2013.09.008>
- McCracken KW, Aihara E, Martin B, et al. Wnt/β-catenin promotes gastric fundus specification in mice and humans. *Nature* 2017; 541(7636): 182–187. <https://doi.org/10.1038/nature21021>
- Huch M, Dorrell C, Boj SF, et al. *In vitro* expansion of single Lgr5+ liver stem cells induced by Wnt-driven regeneration. *Nature* 2013; 494(7436): 247–250. <https://doi.org/10.1038/nature11826>
- Huch M, Gehart H, Boxtel R van, et al. Long-term culture of genome-stable bipotent stem cells from adult human liver. *Cell* 2015; 160(1–2): 299–312. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2014.11.050>
- Huch M, Bonfanti P, Boj SF, et al. Unlimited *in vitro* expansion of adult bi-potent pancreas progenitors through the Lgr5/R-spondin axis. *EMBO J* 2013; 32(20): 2708–2721. <https://doi.org/10.1038/emboj.2013.204>
- Boj SF, Hwang C-I, Baker LA, et al. Organoid models of human and mouse ductal pancreatic cancer. *Cell* 2015; 160(1–2): 324–338. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2014.12.021>
- Molnár R, Madácsy T, Varga Á, et al. Mouse pancreatic ductal organoid culture as a relevant model to study exocrine pancreatic ion secretion. *Lab Invest* 2020; 100(1): 84–97. <https://doi.org/10.1038/s41374-019-0300-3>
- Varga Á, Madácsy T, Görög M, et al. Human pancreatic ductal organoids with controlled polarity provide a novel *ex vivo* tool to study epithelial cell physiology. *Cell Mol Life Sci* 2023; 80(7): 192. <https://doi.org/10.1007/s00018-023-04836-2>
- Szabó V, Csákány-Papp N, Görög M, et al. Orai1 calcium channel inhibition prevents progression of chronic pancreatitis. *JCI Insight* 2023; 8(13): e167645. <https://doi.org/10.1172/jci.insight.167645>
- Madácsy T, Varga Á, Papp N, et al. Impaired regulation of PMCA activity by defective CFTR expression promotes epithelial cell damage in alcoholic pancreatitis and hepatitis. *Cell Mol Life Sci* 2022; 79(5): 265. <https://doi.org/10.1007/s00018-022-04287-1>
- Tél B, Papp N, Varga Á, et al. Thiopurines impair the apical plasma membrane expression of CFTR in pancreatic ductal cells via RAC1 inhibition. *Cell Mol Life Sci* 2023; 80(1): 31. <https://doi.org/10.1007/s00018-022-04662-y>
- Horvath P, Aulner N, Bickle M, et al. Screening out irrelevant cell-based models of disease. *Nat Rev Drug Discov* 2016; 15(11): 751–769. <https://doi.org/10.1038/nrd.2016.175>
- Fang Z, Li P, Du F, et al. The role of organoids in cancer research. *Experimental Hematology & Oncology* 2023; 12(1): 69. <https://doi.org/10.1186/s40164-023-00433-y>
- A további irodalom megtalálható a szerkesztőségben, valamint a gastronews.hu weboldalon.