doi:10.11659/jjssx.01E025001

·综 述·

关节软骨类器官的研究进展

史 冲[1],胡 清[1],阮 默[1],徐永清[1],王颖娜[2] (1.联勤保障部队第920医院骨科,云南 昆明 650032;2.昆明市第三人民医院肝病消化科,云南 昆明 650032)

[摘 要] 关节软骨是人体重要的组织结构,随着对关节组织结构的不断探索及目前新型生物技术类器官的出现,可依据关节软骨组织结构选择不同来源的干细胞进行诱导,分化成关节软骨类器官,并应用于软骨缺损的治疗、药物检测、精准医学及生物发育学研究等。本文就目前关节软骨类器官的研究进展作一综述,以期为临床提供参考。

[关键词] 关节软骨;类器官;间充质干细胞;TGF-β/SMAD信号通路;进展
[中图分类号] R874.5 [文献标志码] A [收稿日期] 2025-01-01

Research progress on articular cartilaginous organoids

SHI Chong[1], HU Qing[1], RUAN Mo[1], XU Yong-qing[1], WANG Ying-na[2] (1. Department of Orthopedics, the 920th Hospital of Joint Logistic Support Force, Kunming Yunnan 650032, China; 2. Department of Hepatology and Gastroenterology, Kunming Third People's Hospital, Kunming Yunnan 650032, China)

Abstract: Articular cartilage is a crucial tissue structure in humans. With ongoing exploration of joint tissue structure and the emergence of innovative biotechnological organoids, various sources of stem cells can be selected for induction to differentiate into articular cartilaginous organoids based on the articular cartilage tissue structure, which can be applied to the treatment of cartilage defects, drug testing, and precision medicine and biological development. This article presents a review of the research progress concerning articular cartilaginous organoids, in order to provide a reference for clinical practice.

Keywords: articular cartilage; organoids; mesenchymal stem cells; TGF-β/SMAD signaling pathway; progress

关节软骨是人体重要的结缔组织之一,提供支撑和缓冲作用。然而,由于其自我修复能力有限,关节软骨损伤往往会导致严重的临床问题,如关节疼痛和活动受损,因此,迫切需要更有效的关节软骨缺损治疗策略[1]。随着科技的不断进步,类器官不断被研究者探索,在培养类器官时可根据关节组织的生物学结构,在细胞中添加不同诱导剂进行诱导,进而得到功能性组织复合物[2]。在生物学特征上,关节软骨类器官(articular cartilaginous organoids,ACOs)更接近于自然软骨细胞结构。因此,ACOs可用于软骨缺损的治疗、药物检测、精准医学及生物发育学研究。本文对ACOs的最新研究进展进行综述,以期为临床软骨缺损的治疗提供新的方法。

1 关节组织的生物结构

关节通常分为3个部分:关节面、关节囊和关节腔。关节面是关节头靠近关节窝的表面,被关节软骨覆盖。关节囊有一个外纤维层和一个产生滑液的内滑液层,可减少摩擦。关节腔是关节软骨和关节囊包围的狭窄空间。

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(31970515);云南省骨科与运动康复临床医学研究中心项目(202102AA310068)
[通信作者] 王颖娜,E-mail:370764486@qq.com

[21] Łuczak-Woźniak K, Niszczota C, Obsznajczyk K, et al. Abnormal left atrial strain and left atrial stiffness index are associated with adverse outcomes in children with cardiomyopathies: a pilot study[J]. Sci Rep, 2024, 14(1): 21059. doi: 10.1038/s41598-024-72175-8.
[22] Loar RW, Colquitt JL, Rainusso NC, et al. Assessing the left atrium of childhood cancer survivors[J]. Int J Cardiovasc Imaging, 2021, 37(1): 155-162. doi: 10.1007/s10554-020-01970-x.
[23] Shakti D, Friedman KG, Harrild DM, et al. Left atrial size and function in patients with congenital aortic valve stenosis[J]. Am J Cardiol, 2018, 122(9): 1541-1545. doi: 10.1016/j.amjcard.2018.07.027.
[24] Tan ESJ, Jin XY, Oon YY, et al. Prognostic value of left atrial strain in aortic stenosis: a competing risk analysis[J]. J Am Soc Echocardiogr, 2023, 36(1): 29-37.e5. doi: 10.1016/j.echo.2022.10.011.
[25] Suzuki K, Kato T, Koyama S, et al. Influence of percutaneous occlusion of atrial septal defect on left atrial function evaluated using 2D speckle tracking echocardiography[J]. Int Heart J, 2020, 61(1): 83-88. doi: 10.1536/ihj.19-173.

(编辑:龙小芬)

1.1 关节软骨

关节软骨由三层组成,包括透明软骨层、钙化软骨层和软骨下骨层。透明软骨层由软骨细胞组成,周围被细胞外基质紧密环绕,细胞外基质主要由Ⅱ型胶原蛋白、糖胺聚糖、蛋白多糖、糖蛋白、水和电解质(Ca^{2+}、K^{+}、Na^{2+}、Cl^{-})组成[3]。软骨细胞是一种分化成熟且高度特异性的细胞类型,占软骨总体积的1%~2%[4],其在维持关节形态方面起着关键作用。因此,干细胞定向分化为软骨细胞也是构建ACDs的重要组成部分[5]。Tam等[6]通过诱导人类多能干细胞分化为软骨细胞,培养出具有透明软骨样组织特征的ACOs。

钙化软骨层是位于透明软骨和软骨下骨之间的薄层。成人关节软骨中钙化软骨层的组成可分为有机成分和无机成分。有机成分主要由Ⅱ型胶原蛋白组成,其在钙化软骨中的含量明显低于透明软骨,而无机成分主要由羟基磷灰石组成[6]。钙化软骨层比相邻的透明软骨层更致密且矿化程度更高。钙化软骨层在类器官构建中也起着重要作用。钙化软骨基质可刺激破骨细胞的形成和吸收,诱导各种促骨因子表达,使新生的骨组织替代原有的软骨损伤组织[7]。

软骨下骨位于钙化软骨正下方,形成类似于骨骼区域皮质骨的板状结构[8]。然而,与皮质骨相比,软骨下骨具有更高的孔隙率和代谢活性,并且羟基磷灰石的含量高于钙化软骨[9]。软骨下骨与钙化软骨共同形成一种生物复合结构,该结构使应力负荷从软骨传递到软骨下骨[10]。此外,软骨下骨组织通过微循环提供营养和氧气,为软骨组织提供必要的代谢支持[11]。与软骨相比,软骨下骨具有不同的生物学特性,可促进软骨形成和成骨,且软骨下骨结构是ACOs开发中必不可少的结构。

1.2 滑膜

滑膜位于关节囊的内层,覆盖关节内韧带和肌腱的表面,其主要功能是分泌滑液,从而减少关节之间的摩擦[12]。在ACOs中,滑膜的组织层包含各种细胞,如成纤维细胞和巨噬细胞。滑膜中的成纤维细胞负责合成和分泌各种细胞外基质和细胞因子;而巨噬细胞具有吞噬功能,参与清除关节腔中的微生物和代谢物[13]。因此,ACOs的成功构建要求滑膜组织中存在这两种细胞类型。

1.3 髌下脂肪垫

髌下脂肪垫是膝关节独有的结构,在关节内起到吸收并分配压力和冲击力的作用,从而减轻关节负担,保护骨骼和软组织。

2 关节再生机制

在关节的再生机制中发现,TGF-β和BMP信号通路对软骨再生起关键作用[14]。TGF-β主要通过TGF-β/SMAD信号通路激活RUNX2基因的转录,从而促进RUNX2蛋白的合成和积累[15]。RUNX2作为关键的转录因子,对成软骨细胞的分化和成熟具有至关重要的调控作用[16]。BMP通过诱导成骨细胞分化为骨细胞,从而促进骨骼形成,BMP和RUNX2间的相互作用在骨骼发育和成骨过程中具有重要作用,BMP-2通过促进RUNX2表达和增强其活性来刺激成骨细胞分化和骨基质的生成[17]。Wnt信号转导对于间充质干细胞(mesenchymal stem cells,MSC)成骨分化、维持成骨细胞表型和调节破骨细胞分化至关重要。此外,YAP/TAZ信号通路和Notch信号通路与各种细胞生长过程相关,包括细胞增殖、细胞分化、组织再生和器官生长;而PI3K/Akt信号通路、IGF信号通路、FGF信号通路等对软骨细胞的稳态及生长至关重要[15,18]。

3 构建ACOs的细胞来源

ACOs细胞可以来源于原代组织或从多能干细胞中分化而来,但软骨原代组织分化程度低且获取困难,目前已尝试基于多能干细胞构建ACOs,包括人诱导多能干细胞(human induced pluripotent stem cells,hiPSC)、MSC和人胚胎干细胞(human embryonic stem cells,hESC)。

3.1 hiPSC

hiPSC是指在基因上被重新编程回hESC状态的体细胞。据报道,hiPSC衍生的MSC(hiPSC-MSC)、拟胚体和神经嵴细胞均能形成ACOs[19]。hiPSC在软骨损伤的治疗中起着重要作用。目前,学者们对源自hiPSC的ACOs进行了广泛的研究[20]。Tong等[21]对hiPSC衍生的ACOs模型进行了功能研究,证明了hiPSC可产生新的软骨组织。Abe等[22]发现,利用同种异体hiPSC衍生的ACOs能更好地修复灵长类动物膝关节软骨缺损。因此,hiPSC由于其高分化能力,可作为构建ACOs模型的潜在细胞来源。但是,hiPSC也存在一些局限性,如重编程的hiPSC具有致癌可能;虽然hiPSC具有快速增殖和高有丝分裂潜力,但容易发生核型变化,导致遗传和表观遗传稳定性降低[23]。

3.2 MSC

MSC可分为脐带来源MSC、脂肪来源MSC、骨髓来源MSC和滑膜来源MSC。尽管上述细胞都属于MSC,但由于其来源不同,导致在增殖、分化、免疫排斥

方面存在较大的差异。脐带来源MSC表现出更快的增殖速度,并且可以维持更多的传代次数,但其分离效率较低。脂肪来源MSC的优势在于分离方便,相比骨髓来源MSC具有更快的增殖速度和更高的集落形成能力[24]。而在分化方面,滑膜来源MSC比骨髓来源MSC具有更强的成脂性和软骨生成潜力[25]。骨髓来源MSC因免疫排斥较低及易获取,临床对其进行了大量研究。但随着年龄的增长,骨髓来源MSC的数量显著减少,其增殖和分化能力显著下降,故存在一定不足。

3.3 hESC

hESC是重要的多能干细胞类型,能够在体外无限自我更新并可分化为所有细胞谱系。hESC分化为软骨细胞通常有两种方法:生长因子刺激和共培养系统。Craft等[26]利用生长因子促进了胚胎干细胞分化为软骨细胞;Bigdeli等[27]的研究将hESC与人关节软骨细胞共培养14 d后,观察到共培养系统可促进hESC分化为软骨细胞。此外,hESC不仅可以直接分化成软骨细胞,还可以在分化成软骨细胞前分化为MSC[28]。然而,hESC的研究非常有争议,因为hESC的分离过程涉及胚胎破坏。未来,可通过诱导MSC取代hESC,以避免hESC引起的伦理问题及免疫排斥性。

4 ACOs的培养

确定了ACOs的来源细胞后,需要创建一个合适的3D生长环境。首先,3D生长环境需要模拟软骨组织的结构和功能。其次,这种环境需包含各种细胞外基质成分,从而促进细胞和基质间的相互作用[1]。最后,3D生长环境需提供更大的表面积和更高的渗透性,使软骨细胞能够有效地获取营养和氧气,从而促进软骨组织的生长[29]。具备上述要求的ACOs培养模式可分为无支架培养和支架培养。

4.1 无支架培养

无支架ACOs的构建主要依赖于软骨细胞在悬浮培养系统中的自聚集形成细胞簇。悬浮培养方法不仅有助于促进细胞的三维聚集,还有利于软骨细胞的选择与纯化。软骨组织是一种主要由软骨细胞和细胞外基质组成的特殊结缔组织。细胞外基质可为软骨细胞提供支撑、稳定性和弹性,使其能够正常运作;此外,无支架培养还具有多种生物学功能,包括调节细胞增殖、分化和迁移。在ACOs无支架培养过程中,软骨细胞和细胞外基质间的相互作用至关重要[30]。软骨细胞自主合成和分泌细胞外基质成分,并通过相互作用维持软骨组织的结构完整性[31]。然而,由于软骨的复杂性和特异性,目前仍无法实现完全模拟天然软骨组织的培养,在控制细胞分化方向、维持组织结构、保持机械功能等方面都还存在一定挑战。因此,要成功实施ACOs的无支架培养,仍需要进一步的研究和优化[32]。

4.2 支架培养

支架培养主要通过利用仿生材料来重建支持软骨细胞生长的类似细胞外基质的环境[33]。在支架培养体系中,常使用可生物降解支架作为三维框架,其不仅能够提供机械支撑和刺激,还能模拟天然细胞外基质的结构,为软骨细胞的增殖与分化创造适宜的物理环境和生物信号。此外,支架还可以作为营养和氧气输送管道,满足软骨细胞的营养和氧气需求[34]。目前,常用于ACOs培养的支架材料包括细胞外基质胶、脱细胞基质、水凝胶和各种生物制造支架[35]。通过修改材料的成分、形状和结构等参数,可以进一步优化支架培养环境,促进软骨组织的生长和发育。例如,可以通过添加生物活性物质、药物分子或生长因子来修饰支架结构,以促进细胞和组织的生长。调整支架的结构参数能够模拟软骨组织的微结构,从而促进细胞黏附、生长与信号交流。同时,支架的机械性能同样关键,合理调控其刚度与韧性可优化局部力学环境,为软骨再生提供必要的结构支撑[36]。

5 ACOs的应用

ACOs培养具有巨大的优势,既可以在较长时间内扩增从而确保其遗传稳定性,也可以将类器官冷冻保存形成生物样本库,用于未来的研究[37]。目前,ACOs已应用于各个领域,包括软骨缺损的治疗、药物检测和疗效评价、个性化精准诊断、生物发育学研究。

5.1 软骨缺损的治疗

目前,临床对软骨缺损的治疗效果有限,而再生医学使以更可行、有效的方式修复组织和器官损伤成为了可能[38]。ACOs通过获得自体干细胞并在体外诱导分化为软骨,发育成熟后移植到体内进行修复。尽管研究者多次尝试构建用于软骨再生的类器官,但实现软骨结构重建较为困难,目前的类器官仅局限于单一结构,尚未完全形成具有与天然软骨细胞层完全一致的类器官[39]。因此,迫切需要开发新的方法来优化ACOs,使其可更接近天然软骨组织的复杂结构和功能。建立用于软骨组织再生的类器官具有巨大的临床应用潜力。随着进一步的研究,ACOs有望成为软骨移植和填充材料的替代品,为软骨缺损患者提供更安全、有效的治疗选择。

5.2 药物检测和疗效评价

当前针对人类疾病的药物开发面临一些限制,如患者的个体多样性、不可预测的治疗结果以及药物测试过程。由于ACOs结构的单一性,目前还无法用于药物的检测及疗效评价,但类器官在其他领域已经成功应用[40]。例如,在小鼠远端肠道类器官中已成功筛选了2 000多种药理活性化合物以抑制K^+转运。此外,在原发性肝癌的类器官模型中证明了体外肝肿瘤类器官可以表达与体内相同的基因谱系,为高通量筛选肿瘤药物提供了新的手段[41]。因此,未来若能成功构建天然ACOs,将为慢性疾病新药筛选提供高保真度的体外模型,从而为解决软骨再生等问题提供新思路。

5.3 个性化精准诊断

精准医疗旨在依据个体遗传信息实现疾病的个性化诊疗。类器官技术通过体外培养患者来源细胞,构建与患者基因组成及病理特征一致的三维模型,为精准治疗提供理想的实验平台。类器官可用于筛选潜在的治疗方法,并体外选择药物,从而降低治疗期间副作用的发生风险,为患者提供一种更安全、有效的治疗方式。目前关于ACOs的研究仍较为欠缺,未来该领域的发展有望为提高软骨相关疾病的治疗效果与患者生活质量提供新的途径[42]。

5.4 生物发育学研究

生物体的生长和发育过程非常复杂,使用来自未分化干细胞的类器官有助于清晰了解生物体中组织和器官的生长和发育。例如,ACOs可以重现生物体中钙化软骨层和软骨下骨层的形成,通过检测该过程中基因和蛋白的差异表达,有利于深入了解骨骼生长和发育所涉及的分子机制[43-44]。因此,类器官是研究生物体发育过程的强大工具。

6 总结与展望

尽管ACOs的研究仍处于起步阶段,但从目前的发展来看,其在组织工程中具有巨大的应用潜力。然而,ACOs的研究仍面临许多挑战。首先,ACOs具备原始组织的基本结构和部分生理功能,但由于关节腔微环境的复杂性与多样性,现有培养体系难以完全模拟体内的再生环境。其次,细胞成熟度不足,这可能限制类器官在生物发育模型中的进一步应用。此外,在体外培养的ACOs移植到体内治疗相关疾病的过程中如何与正常组织进行固定及移植后细胞存活率等问题还需进一步研究。最后,ACOs的生物力学特性也需要进一步考虑,可研究在生物体中表现出正常机械应力的ACOs,以更好地用于骨骼疾病的研究和治疗。

尽管ACOs的研究和应用仍存在许多挑战,但其在骨与关节发育和疾病模拟、药物筛选和再生医学方面具有广阔的应用前景。未来,联合生物材料、3D生物打印技术、器官芯片技术和新的基因编辑技术等有望促进ACOs的进一步发展。

[参考文献]

[1] Chen Z, Zhou T, Luo H, et al. HWJMSC-EVs promote cartilage regene-ration and repair via the ITGB1/TGF-β/Smad2/3 axis mediated by microfractures[J]. J Nanobiotechnology, 2024, 22(1): 177. doi: 10.1186/s12951-024-02451-2.

[2] Zhu L, Yuhan J, Yu H, et al. Decellularized extracellular matrix for remodeling bioengineering organoid's microenvironment[J]. Small, 2023, 19(25): e2207752. doi: 10.1002/smll.202207752.

[3] Chen M, Jiang Z, Zou X, et al. Advancements in tissue engineering for articular cartilage regeneration[J]. Heliyon, 2024, 10(3): e25400. doi: 10.1016/j.heliyon.2024.e25400.

[4] Lin YL, Yu L, Yan M, et al. Induced regeneration of articular cartilage-identification of a dormant regeneration program for a non-regenerative tissue[J]. Development, 2023, 150(21): dev201894. doi: 10.1242/dev.201894.

[5] Lin W, Wang M, Xu L, et al. Cartilage organoids for cartilage development and cartilage-associated disease modeling[J]. Front Cell Dev Biol, 2023, 11: 1125405. doi: 10.3389/fcell.2023.1125405.

[6] Tam WL, Freitas Mendes L, Chen X, et al. Human pluripotent stem cell-derived cartilaginous organoids promote scaffold-free healing of critical size long bone defects[J]. Stem Cell Res Ther, 2021, 12(1): 513. doi: 10.1186/s13287-021-02580-7.

[7] Xie C, Liang R, Ye J, et al. High-efficient engineering of osteo-callus organoids for rapid bone regeneration within one month[J]. Biomaterials, 2022, 288: 121741. doi: 10.1016/j.biomaterials.2022.121741.

[8] Wang H, Yuan T, Wang Y, et al. Osteoclasts and osteoarthritis: novel intervention targets and therapeutic potentials during aging[J]. Aging Cell, 2024, 23(4): e14092. doi: 10.1111/acel.14092.

[9] Lu S, Fang C. Isosakuranetin inhibits subchondral osteoclastogenesis for attenuating osteoarthritis via suppressing NF-κB/CXCL2 axis[J]. Int Immunopharmacol, 2024, 143(Pt 1): 113321. doi: 10.1016/j.intimp.2024.113321.

[10] Yang D, Xu J, Xu K, et al. Skeletal interoception in osteoarthritis[J]. Bone Res, 2024, 12(1): 22. doi: 10.1038/s41413-024-00328-6.

[11] Hu W, Chen Y, Dou C, et al. Microenvironment in subchondral bone: predominant regulator for the treatment of osteoarthritis[J]. Ann Rheum Dis, 2021, 80(4): 413-422. doi: 10.1136/annrheumdis-2020-218089.

[12] Zhang L, Li M, Li X, et al. Characteristics of sensory innervation in synovium of rats within different knee osteoarthritis models and the correlation between synovial fibrosis and hyperalgesia[J]. J Adv Res, 2022, 35: 141-151. doi: 10.1016/j.jare.2021.06.007.

[13] Han J, Zhang J, Zhang X, et al. Emerging role and function of Hippo-YAP/TAZ signaling pathway in musculoskeletal disorders[J]. Stem Cell Res Ther, 2024, 15(1): 386. doi: 10.1186/s13287-024-04011-9.

[14] Jing Z, Zhang G, Cai Y, et al. Engineered extracellular vesicle-delivered TGF-β inhibitor for attenuating osteoarthritis by targeting

subchondral bone[J]. J Tissue Eng, 2024, 15: 20417314241257781. doi: 10.1177/20417314241257781.

[15] Vermeulen S, Tahmasebi Birgani Z, Habibovic P. Biomaterial-induced pathway modulation for bone regeneration[J]. Biomaterials, 2022, 283: 121431. doi: 10.1016/j.biomaterials.2022.121431.

[16] Vitale E, Manicardi V, Gugnoni M, et al. Exploring the transcriptional cooperation between RUNX2 and its associated elncRNA RAIN[J]. Cell Death Dis, 2024, 15(9): 673. doi: 10.1038/s41419-024-07058-x.

[17] Chen J, Wang Y, Tang T, et al. Enhanced effects of slowly co-released TGF-β3 and BMP-2 from biomimetic calcium phosphate-coated silk fibroin scaffolds in the repair of osteochondral defects[J]. J Nanobiotechnol, 2024, 22(1): 453. doi: 10.1186/s12951-024-02712-0.

[18] Chen Z, Ding W, Duan P, et al. HWJMSC-derived extracellular vesicles ameliorate IL-1β -induced chondrocyte injury through regulation of the BMP2/RUNX2 axis via up-regulation TFRC[J]. Cell Signal, 2023, 105: 110604. doi: 10.1016/j.cellsig.2023.110604.

[19] Guzzo RM, Gibson J, Xu RH, et al. Efficient differentiation of human iPSC-derived mesenchymal stem cells to chondroprogenitor cells[J]. J Cell Biochem, 2013, 114(2): 480-490. doi: 10.1002/jcb.24388.

[20] Yamashita A, Tsumaki N. Recent progress of animal transplantation studies for treating articular cartilage damage using pluripotent stem cells[J]. Dev Growth Differ, 2021, 63(1): 72-81. doi: 10.1111/dgd.12706.

[21] Tong X, Poramba-Liyanage DW, van Hoolwerff M, et al. Isolation and tracing of matrix-producing notochordal and chondrocyte cells using ACAN-2A-mScarlet reporter human iPSC lines[J]. Sci Adv, 2024, 10(43): eadp3170. doi: 10.1126/sciadv.adp3170.

[22] Abe K, Yamashita A, Morioka M, et al. Engraftment of allogeneic iPS cell-derived cartilage organoid in a primate model of articular cartilage defect[J]. Nat Commun, 2023, 14(1): 804. doi: 10.1038/s41467-023-36408-0.

[23] Xu Z, Yang J, Xin X, et al. Merits and challenges of iPSC-derived organoids for clinical applications[J]. Front Cell Dev Biol, 2023, 11: 1188905. doi: 10.3389/fcell.2023.1188905.

[24] Wu SH, Yu JH, Liao YT, et al. Comparison of infant bone marrow- and umbilical cord-derived mesenchymal stem cells in multilineage differentiation[J]. Regen Ther, 2024, 26: 837-849. doi: 10.1016/j.reth.2024.09.011.

[25] Sun Y, You Y, Wu Q, et al. Senescence-targeted microRNA/organoid composite hydrogel repair cartilage defect and prevention joint degene- ration via improved chondrocyte homeostasis[J]. Bioact Mater, 2024, 39: 427-442. doi: 10.1016/j.bioactmat.2024.05.036.

[26] Craft AM, Ahmed N, Rockel JS, et al. Specification of chondrocytes and cartilage tissues from embryonic stem cells[J]. Development, 2013, 140(12): 2597-2610. doi: 10.1242/dev.087890.

[27] Bigdeli N, Karlsson C, Strehl R, et al. Coculture of human embryonic stem cells and human articular chondrocytes results in significantly altered phenotype and improved chondrogenic differentiation[J]. Stem Cells, 2009, 27(8): 1812-1821. doi: 10.1002/stem.114.

[28] Wei W, Dai H. Articular cartilage and osteochondral tissue engineering techniques: recent advances and challenges[J]. Bioact Mater, 2021, 6(12): 4830-4855. doi: 10.1016/j.bioactmat.2021.05.011.

[29] Kong Y, Yang Y, Hou Y, et al. Advance in the application of organoids in bone diseases[J]. Front Cell Dev Biol, 2024, 12: 1459891. doi: 10.3389/fcell.2024.1459891.

[30] Gong Z, Wang K, Chen J, et al. CircZSWIM6 mediates dysregulation of ECM and energy homeostasis in ageing chondrocytes through RPS14 post-translational modification[J]. Clin Transl Med, 2023, 13(1): e1158. doi: 10.1002/ctm2.1158.

[31] Sun W, Gregory DA, Zhao X. Designed peptide amphiphiles as scaffolds for tissue engineering[J]. Adv Colloid Interface Sci, 2023, 314: 102866. doi: 10.1016/j.cis.2023.102866.

[32] Hall GN, Chandrakar A, Pastore A, et al. Engineering bone-forming biohybrid sheets through the integration of melt electrowritten membranes and cartilaginous microspheroids[J]. Acta Biomater, 2023, 165: 111-124. doi: 10.1016/j.actbio.2022.10.037.

[33] Ovsianikov A, Khademhosseini A, Mironov V. The synergy of scaffold-based and scaffold-free tissue engineering strategies[J]. Trends Biotechnol, 2018, 36(4): 348-357. doi: 10.1016/j.tibtech.2018.01.005.

[34] Wang B, Fei X, Yin HF, et al. Photothermal-controllable microneedles with antitumor, antioxidant, angiogenic, and chondrogenic activities to sequential eliminate tracheal neoplasm and reconstruct tracheal cartilage[J]. Small, 2024, 20(11): e2309454. doi: 10.1002/smll.202309454.

[35] Marsee A, Roos FJM, Verstegen MMA, et al. Building consensus on definition and nomenclature of hepatic, pancreatic, and biliary organoids[J]. Cell Stem Cell, 2021, 28(5): 816-832. doi: 10.1016/j.stem.2021.04.005.

[36] Liu J, Tang C, Huang J, et al. Nanofiber composite microchannel-containing injectable hydrogels for cartilage tissue regeneration[J]. Adv Healthc Mater, 2023, 12(31): e2302293. doi: 10.1002/adhm.202302293.

[37] Fujii M, Sato T. Somatic cell-derived organoids as prototypes of human epithelial tissues and diseases[J]. Nat Mater, 2021, 20(2): 156-169. doi: 10.1038/s41563-020-0754-0.

[38] Xue X, Hu Y, Wang S, et al. Fabrication of physical and chemical crosslinked hydrogels for bone tissue engineering[J]. Bioact Mater, 2022, 12: 327-339. doi: 10.1016/j.bioactmat.2021.10.029.

[39] Phillips R. Allogeneic iPSC-derived organoids repair articular cartilage[J]. Nat Rev Rheumatol, 2023, 19(4): 196. doi: 10.1038/s41584-023-00937-1.

[40] Hofer M, Lutolf MP. Engineering organoids[J]. Nat Rev Mater, 2021, 6(5): 402-420. doi: 10.1038/s41578-021-00279-y.

[41] Broutier L, Mastrogiovanni G, Verstegen MM, et al. Human primary liver cancer-derived organoid cultures for disease modeling and drug screening[J]. Nat Med, 2017, 23(12): 1424-1435. doi: 10.1038/nm.4438.

[42] Tuveson D, Clevers H. Cancer modeling meets human organoid technology[J]. Science, 2019, 364(6444): 952-955. doi: 10.1126/science.aaw6985.

[43] Yang B, Li Z, Yang Z, et al. Recapitulating hypoxic metabolism in cartilaginous organoids via adaptive cell-matrix interactions enhances histone lactylation and cartilage regeneration[J]. Nat Commun, 2025, 16(1): 2711. doi: 10.1038/s41467-025-57779-6.

[44] Shen CY, Zhou QR, Wu X, et al. Accelerating cartilage regeneration with DNA-SF hydrogel sustained release system-based cartilage organoids[J]. Mil Med Res, 2025, 12(1): 39. doi: 10.1186/s40779-025-00625-z.

(编辑:龙小芬)