

中图分类号: R965.3; R969.1

文献标志码: A

文章编号: 1006-4931(2026)15-0001-08

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2026.15.001



肠-肝轴器官芯片在药物肝毒性评价中的应用现状及前景*

曹涵博^{1,2}, 焦洁¹, 郑旭¹, 王莉芳¹, 王嫦鹤³, 蔡虎³, 崔亚丽^{2△}

(1. 陕西省食品药品检验研究院, 陕西 西安 710065; 2. 西北大学生命科学院, 陕西 西安 710069; 3. 陕西省医疗器械质量研究院, 陕西 西安 712000)

摘要:目的 为药物肝毒性评价提供参考。方法 采用文献综述法, 梳理肠-肝轴器官芯片的生理学基础、药物代谢通路、技术原理、芯片构建策略, 以及在药物肝毒性评价中的应用进展, 分析该技术的优势与局限性, 并对未来的发展方向进行展望。结果 该模型可完整模拟药物肠-肝代谢过程, 对乙酰氨基酚、伊立替康等药物的验证结果显示, 其毒性检测灵敏度较传统模型明显提升, 同时可解析肠道菌群、肠道屏障与肝损伤的关联机制, 但目前仍存在标准化缺失、细胞成熟度不足、菌群共培养困难等问题。结论 肠-肝轴器官芯片具有良好的应用潜力, 后续可结合人工智能、标准化建设进一步推动其临床转化。

关键词: 器官芯片; 肠-肝轴; 药物肝毒性; 体外评价

Application Status and Prospects of Gut - Liver Axis Organ - on - a - Chip in Drug - Induced Hepatotoxicity Evaluation

Cao Hanbo^{1,2}, Jiao Jie¹, Zheng Xu¹, Wang Lifang¹, Wang Changhe³, Cai Hu³, Cui Yali^{2△}

(1. Shaanxi Institute of Food and Drug Control, Xi'an, Shaanxi 710065, China; 2. Northwest University, Xi'an, Shaanxi 710069, China; 3. Shaanxi Medical Device Quality Testing Institute, Xi'an, Shaanxi 712000, China)

Abstract: Objective To provide a reference for the evaluation of drug - induced hepatotoxicity. **Methods** A literature review was conducted to review the physiological basis, drug metabolism pathways, technical principles, chip construction strategies of the gut - liver axis organ - on - a - chip, and its application progress of the evaluation of the drug - induced hepatotoxicity. The advantages and limitations of this technology were analyzed, and future development directions were discussed. **Results** The model can fully simulate the drug gut - liver metabolism process. The validation results of drugs such as acetaminophen and irinotecan showed that their toxicity detection sensitivity significantly improved compared to that detected by traditional models. Meanwhile, the model can analyze the correlation mechanism between gut microbiota, the gut barrier, and liver injury. However, there are still some problems, such as lack of standards, insufficient cell maturity, and difficulty in co - culturing microbiota. **Conclusion** The gut - liver axis organ - on - a - chip has great potential for application and can be further promoted for clinical translation in the future by combining artificial intelligence and standardization construction.

Key words: organ - on - a - chip; gut - liver axis; drug - induced hepatotoxicity; *in vitro* evaluation

药物性肝损伤(DILI)是临床药物研发和上市后安全性监测中面临的核心挑战。流行病学研究显示, DILI的发病率因地区和人群而异。在欧美国家, 抗菌药物是导致DILI的主要药物类别^[1]; 在我国, 中药及草药制品则是首要诱因^[2]。尽管DILI在普通人群中的发生率相对较低, 约占急性肝衰竭病例的50%, 但其后果严重, 是导致药物从市场撤回的主要原因^[3-4]。近年来, 随着新分子实体药物数量的持续增长, 传统肝毒性评价方法在预测临床DILI方面的局限性日益凸显。目前, 药物肝毒性的临床前评价主要依赖动物模型和二维(2D)细胞培养体系。动物模型虽能模拟整体生理环境, 但种属差异导致的药物代谢酶表达谱、免疫应答模式等与人体存在显著不同^[4]。2D、单层细胞培养则因缺乏三维(3D)结构、细胞间相互作用及动态流体环境而难以真

实反映体内药物代谢过程^[5]。特别是口服药物经肠道吸收后经门静脉进入肝脏的首过效应, 涉及肠道上皮细胞、肠道菌群、肝细胞、非实质细胞的复杂协同作用, 单一器官模型无法完整再现这一过程。肠-肝轴是连接消化道与肝脏的重要生理通路。口服药物经肠道吸收后, 部分在肠道内经I相和II相代谢酶初步代谢, 随后经门静脉进入肝脏, 完成首过代谢^[5]。此外, 肠道菌群通过生物转化作用可显著改变药物的活性和毒性特征, 其代谢产物亦可经门静脉影响肝脏功能^[6]。因此, 将肠道与肝脏的代谢过程整合在同一评价体系中, 对于准确预测药物肝毒性具有重要意义。器官芯片技术是近年来快速发展的一类体外仿生平台, 通过微流控芯片结构模拟人体器官的微环境, 包括细胞外基质(ECM)、机械剪切力、氧浓度梯度、实时监测功能等^[7-8]。该技术

* 基金项目: 陕西省重点研发计划项目[2023-ZDLSF-08]。

第一作者: 曹涵博, 女, 博士, 主管药师, 研究方向为药品、化妆品、医疗器械、保健食品的安全性评价, (电子信箱)hannecao@163.com。

△通信作者: 崔亚丽, 女, 博士, 教授, 研究方向为磁性微粒开展重大疾病诊疗的研究和技术转化, (电子信箱)yalicui@nwu.edu.cn。

在多器官联合建模方面展现出独特优势,能通过流体连接实现不同器官单元间的物质交换和信号传递^[9-10]。自2010年Huh等^[8]首次报道肺芯片以来,器官芯片技术已从单器官模型逐步发展为多器官,甚至“人体芯片”系统,为药物安全性评价提供了新的工具。本研究中采用文献综述法,梳理了肠-肝轴器官芯片的生理学基础、药物代谢通路、技术原理、芯片构建策略,以及在药物肝毒性评价中的应用进展,分析该技术的优势与局限性,并对未来的发展方向进行展望,以期对相关研究提供参考。现报道如下。

1 肠-肝轴的生理学基础与药物代谢通路

1.1 肠-肝轴的解剖与功能概述

肠-肝轴是指肠道与肝脏间通过门静脉循环、胆汁酸肠肝循环、免疫信号通路形成的双向通讯体系。解剖学上,肠道屏障由多层结构组成。最内层为单层柱状上皮细胞,细胞间通过紧密连接蛋白维持屏障的完整性;其外覆盖黏液层,由杯状细胞分泌的黏蛋白构成,既是物理屏障,也是微生物定植的基质^[11]。肝脏作为人体最大的代谢器官,其基本功能单元为肝小叶,主要由肝细胞构成,辅以胆管上皮细胞、库普弗细胞、肝星状细胞、肝窦内皮细胞等非实质细胞^[12]。门静脉是连接肠道与肝脏的核心血管通路,收集来自胃肠道、脾脏、胰腺的血液,将其输送至肝脏进行代谢和解毒。这一解剖学连接可使肠道内容物(营养物质、药物及其代谢产物、菌群成分、内毒素等)能直接影响肝脏功能状态^[11]。

1.2 口服药物的肠-肝代谢过程

口服药物进入人体后,首先在胃肠道内经过崩解和溶解,随后在肠道上皮细胞中发生初步代谢。肠道中表达的药物代谢酶包括细胞色素P450 3A4(CYP3A4)、细胞色素P450 2C9(CYP2C9)、尿苷二磷酸葡萄糖醛酸基转移酶(UGT)、磺基转移酶(SULT)等,参与药物的I相和II相代谢反应^[5]。经过肠道代谢后,药物及其代谢产物经门静脉进入肝脏,在肝细胞中经进一步首过代谢,随后进入体循环^[5,13]。胆汁酸肠肝循环是肠-肝轴的另一重要代谢通路。肝脏合成的初级胆汁酸经胆管排入肠道,在肠道菌群作用下转化为次级胆汁酸,其中约有95%在回肠末端被重吸收,经门静脉返回肝脏^[11]。这一循环不仅参与脂质代谢的调控,还通过法尼醇X受体(FXR)、G蛋白偶联胆汁酸受体5(TGR5)等信号通路影响肝脏的炎症、纤维化和代谢状态。

1.3 肠道因素对药物肝毒性的影响

肠道屏障功能的完整性对于维持肝脏健康至关重要。当肠道屏障受损时,肠腔内细菌产生的脂多糖(LPS)等内毒素可穿过受损的屏障进入门静脉循环,激活肝脏的库普弗细胞,触发促炎因子[如肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素6(IL-6)]的释放,进而加

剧肝细胞损伤^[6]。这种“肠漏-肝损”机制在多种DILI中发挥重要作用。肠道菌群对药物肝毒性的调节主要通过以下2种途径实现:1)直接生物转化。菌群可将药物前体转化为活性形式或将活性药物转化为毒性代谢产物。2)间接调控。菌群代谢产物(如短链脂肪酸、次级胆汁酸等)可影响肝脏的代谢酶表达和免疫应答状态^[6]。以对乙酰氨基酚(APAP)为例,肠道菌群可影响其代谢产物N-乙酰-p-苯醌亚胺(NAPQI)的生成速率,进而改变肝毒性程度^[14]。药物-菌群-肝脏的相互作用构成了一个复杂的调控网络,单一器官模型难以全面捕捉这种多层次的交互效应,这也正是多器官芯片技术在该领域具有应用价值的理论基础^[6]。可见,肠道屏障与菌群是调控药物肝毒性的关键环节,也决定了单一细胞模型的应用局限性。

2 器官芯片的技术概述

2.1 技术原理与核心特征

器官芯片是建立在微流控技术和细胞生物学基础上的体外仿生平台。其核心设计理念为通过微尺度通道和腔室结构,模拟人体器官的关键结构和微环境特征^[7]。典型的器官芯片由透明高分子材料[如聚二甲基硅氧烷(PDMS)、聚碳酸酯(PC)等]制成,包含1个或多个微流控通道,通道内可接种目标细胞,并通过外接泵系统实现动态流体灌注^[15]。与传统静态培养相比,器官芯片的几项关键特征使其在生理相关性方面具有以下3项优势:1)剪切力模拟。通过调控流体速率,可模拟血管内血液流动对内皮细胞的机械刺激,促进细胞极性分化和功能成熟^[10]。2)3D微环境重建。芯片腔室中可填充ECM或水凝胶支架,支持细胞的立体生长和细胞间相互作用的形成^[7]。3)实时监测能力。部分芯片已集成跨上皮电阻(TEER)传感器、荧光检测模块及氧浓度传感器,可实现培养过程中的非侵入式连续监测^[16]。

2.2 主要技术平台

目前,全球已有多家机构和企业开发了相对成熟的器官芯片平台。美国Emulate公司(源于哈佛大学Wyss生物工程研究所)的Organ Chip系统采用双通道设计,中间由多孔柔性膜分隔,已在肺、肠、肝、肾等多种器官模型中得到验证^[7]。德国TissUse公司的HUMIMIC Chip系统采用多孔微流体隔板连接不同器官腔室,支持最多4~7个器官的串联培养,在多器官药代动力学(PK)研究中的应用较广泛^[17]。荷兰Mimetas公司的OrganoPlate平台基于384孔板格式,采用微流控梯度阵列设计,具有高通量筛选的潜力^[10]。此外,英国CN Bio公司的PhysioMimix系统、瑞士InSphero公司的3D微组织平台等也已在药物毒理学评价中开展了相关研究^[18]。

2.3 从单器官到多器官的发展趋势

器官芯片技术正经历从单器官模型向多器官联合

系统的快速演进。单器官芯片(如肝芯片、肠芯片)已在各自的领域取得了显著进展,但药物在体内的代谢和毒性效应常涉及多个器官的协同作用^[9]。多器官芯片通过微流控回路将不同器官单元连接,模拟器官间的物质传递和信号通讯,能更全面地再现药物的PK和药效动力学(PD)特征^[19-20]。近年来,研究者已成功构建了肠-肝、肠-肝-肾、肠-肝-胎盘等多器官芯片系统,并在药物首过代谢、代谢产物鉴定、毒代动力学参数拟合等方面取得了有价值的试验数据^[13,19,21]。器官芯片与类器官技术的结合是另一重要趋势,人诱导多能干细胞(hiPSC)来源的类器官能提供更接近人体原代组织的细胞来源,与芯片的动态培养环境相辅相成^[20]。

3 肠-肝轴器官芯片的构建策略

3.1 芯片设计模式

肠-肝轴芯片的设计核心在于如何在微流控系统中合理布局肠道和肝脏2个功能单元,并实现两者间有效的物质交换。目前报道的设计模式主要有以下3种:1)水平式双腔室设计是目前应用最广泛的方案。以Lucchetti等^[22]开发的平台为例,该系统将人微生物交叉反应肠道芯片(HuMiX)与Dynamic42肝脏芯片通过微流控管路双向连接,中间设置模拟血管/间质区域的通道。该设计中,肠道腔室和肝脏腔室并行排列,培养基在两腔室间循环流动,模拟体内的门静脉血流。该团队通过此平台成功模拟了伊立替康的肠-肝代谢过程,并通过液相色谱串联质谱(LC-MS/MS)法追踪了药物代谢物的动态变化。2)闭环循环设计简化了系统操作。Yang等^[23]报道了集成式肠-肝芯片(iGLC),将人源肠道细胞和肝脏细胞接种在微流控闭环回路中的不同腔室内,培养基在回路中持续循环,这种设计能在不依赖外接泵的条件下维持2个器官间的物质交换。3)垂直式层流设计利用重力驱动或泵驱动实现上层肠道与下层肝脏间的物质传输。De Gregorio等^[13]采用此方案构建了肠-肝芯片,成功模拟了乙醇经肠道吸收后的首过代谢过程,并发现肠道对乙醇引起的DILI有保护作用。Wang等^[24]则在此基础上进行了材料创新,采用全氟聚醚(PFPE)替代常规的PDMS材料构建了肠-肝芯片,显著减少了疏水性药物在芯片壁面的吸附损失,提高了首过代谢和口服生物利用度评价的准确性。

3.2 细胞来源与选择

细胞来源的选择直接决定了芯片模型的生理相关性和功能成熟度。在肠道模型方面,目前最常用的细胞系为Caco-2和HT-29。Caco-2细胞来源于人结直肠癌,在培养过程中可自发分化为具有刷状缘和紧密连接的肠上皮样细胞,广泛用于肠道渗透性研究^[19]。HT-29细胞及其亚系(如HT29-MTX-E12)可分泌黏蛋白,与Caco-2共培养可更真实地模拟肠道黏液

层。近年来,hiPSC来源的小肠类器官因其细胞类型多样性和遗传背景可定制的优势,逐渐成为肠道芯片的重要细胞来源^[25]。肝脏模型方面,HepG2细胞因其培养简便、代谢酶表达稳定而成为最常用的肝细胞系。但HepG2细胞的CYP450酶活性远低于原代肝细胞,限制了其在药物代谢研究中的应用^[12]。原代人肝细胞(PHH)是最理想的体外肝毒性评价细胞来源,可表达完整的药物代谢酶谱,但其体外培养时间有限,且来源匮乏^[26]。hiPSC分化的肝细胞和肝脏类器官为解决细胞来源问题提供了新途径,但功能成熟度仍需进一步提高^[27]。此外,非实质细胞的引入对于准确评价药物肝毒性不可或缺,如肝窦内皮细胞(LSEC)参与物质转运和免疫监视,库普弗细胞介导炎症应答,肝星状细胞与纤维化过程密切相关。Yu等^[28]在其肠-肝芯片中同时引入了人脐静脉内皮细胞(HUVEC)-T1、THP-1巨噬细胞和原代人肝星状细胞,构建了包含多种肝脏非实质细胞的复合肝等效体。

3.3 共培养与微环境模拟

微环境参数的精确调控是肠-肝芯片功能实现的关键,液体流动与剪切力是首要考虑的因素。Feng等^[29]提出了基于相似性缩放的方法,用于确定器官芯片中流速和剪切力的合理范围。Mennella等^[30]的研究表明,剪切力的差异可显著影响肠道上皮的渗透性特征,即低剪切力条件下旁细胞通路渗透性更高,而高剪切力条件下跨细胞摄取更显著。氧浓度梯度是肠-肝芯片微环境模拟的另一重要参数,生理状态下,肠道腔内呈低氧环境(氧气含量1%~5%),而肝脏的氧分压相对较高(氧气含量10%~13%)。Izadifar等^[16]开发的集成传感器芯片实现了对腔室内氧浓度的实时监测和调控,为氧梯度模拟提供了技术支持。ECM与3D支架材料的选取同样影响细胞的附着、极化和功能表达,常用材料包括胶原、Matrigel、纤维蛋白等天然基质,以及基于PDMS或PFPE的合成支架^[24]。Carius等^[31]的研究指出,以PDMS为基底材料的芯片中普遍存在的药物吸附问题可显著影响吸收-分布-代谢-排泄(ADME)评价的准确性,应引起研究者的重视。

3.4 肠道菌群引入方式

肠道菌群的引入是肠-肝芯片区别于普通肠-肝共培养系统的核心特征,也是技术难度较高的环节之一。主要挑战在于肠道厌氧菌(如拟杆菌、梭菌等)的生存需要严格的无氧环境,而肝细胞等需氧细胞则依赖有氧条件^[6]。目前报道的菌群引入策略主要有以下3种:1)单一/混合厌氧菌共培养。直接将特定菌株或菌群混合物接种至肠道腔室中。Lucchetti等^[22]在MOoC平台的肠道腔室中引入大肠杆菌,发现该菌能将伊立替康的无活性代谢物SN-38G转化为高毒性代谢物SN-38,

显示了菌群对药物代谢的直接干预。2) 菌群代谢物灌注模型。将芯片外的厌氧发酵系统产生的菌群代谢产物作为灌注液输入肠道腔室, 避免在芯片内直接进行厌氧培养^[6]。3) 芯片外离线厌氧培养 + 灌注模型。将肠道菌群在独立的厌氧反应器中培养, 定期收集上清液灌注至肠道腔室^[6]。这种间接策略在技术实现上最简便, 但可能无法完整模拟菌群与肠道上皮细胞间的直接相互作用。Puschhof等^[32]对类器官和芯片技术在模拟人-肠道菌群互作中的应用进行了系统综述, 指出当前模型在菌群多样性维持和长期共培养稳定性方面仍有较大的改进空间。肠道菌群与厌氧菌/需氧菌共培养的矛盾, 仍是肠-肝轴芯片技术突破的难点。

4 肠-肝轴芯片在药物肝毒性评价中的应用进展

4.1 PK 研究

肠-肝轴芯片的核心应用场景之一为模拟口服药物经肠道吸收、首过代谢后进入体循环的全过程, 从而获取比单器官模型更完整的PK参数。Kim等^[19]的研究指出, 肠-肝芯片通过流体连接将肠道和肝脏2个代谢单元串联, 能模拟药物浓度在2个器官间的动态变化, 为药物代谢途径鉴定和代谢产物定量提供试验基础。Graf等^[33]将这一思路进一步推进, 构建了包含肠道、肝脏和胎盘的三器官微生理系统, 并引入数字孪生框架对PK参数进行预测和验证。该研究以皮质类固醇药物为模型, 通过将芯片实测数据与计算模型相结合, 实现了对药物在各器官间分布和清除过程的定量描述。这种方法论上的创新为肠-肝芯片在PK研究中的应用提供了新模式。在毒代动力学方面, Yu等^[28]在肠-肝芯片中给予过量APAP后, 采用高效液相色谱法检测不同时间点的药物浓度, 并通过Phoenix软件的非房室分析方法拟合毒代动力学参数, 结果显示, APAP在肠道-肝脏芯片系统中的浓度-时间曲线与体内过程具有可比性, 验证了该平台在毒代动力学模拟中的可行性。

4.2 特异性药物的肝毒性评价案例

APAP的肝毒性评价: APAP是目前全球使用最广泛的非处方解热镇痛药, 也是DILI的经典模型药物。APAP在治疗剂量下主要经葡萄糖醛酸化和硫酸化途径代谢解毒, 但在过量情况下, CYP2E1和CYP3A4介导的氧化代谢通路被激活, 生成高反应性代谢物NAPQI, 该物质与肝细胞内谷胱甘肽(GSH)结合后被清除; 当GSH耗竭时, NAPQI与蛋白质共价结合导致肝细胞坏死^[14]。Yu等^[28]在肠-肝芯片中对APAP过量引发的肝毒性进行了系统评价, 该芯片采用Caco-2和HT29-MTX-E12细胞构建肠道等效体, 以HepG2、HUVEC-T1、佛波酯诱导分化的THP-1巨噬细胞、原代人肝星状细胞构建肝脏等效体。给予过量APAP后, 观察到活性氧(ROS)信号显著增强、线粒体膜电位下降、胱天蛋白酶3

(caspase-3)被激活、p53信号通路上调、天门冬氨酸氨基转移酶(AST)和丙氨酸氨基转移酶(ALT)水平升高, 白蛋白(ALB)分泌减少等毒性响应。这些研究结果表明, 肠-肝芯片能再现APAP过量后从肠道吸收到肝脏毒性的级联过程。Messelmani等^[34]从代谢组学角度对APAP在肝脏芯片上的毒性机制进行了补充研究, 该团队在芯片中共培养肝窦内皮细胞(LSEC)与肝细胞, 以APAP为模型药物, 通过代谢组学分析揭示了2类细胞间的代谢物交互网络。研究发现, LSEC的存在改变了肝细胞对APAP的代谢响应模式, 提示非实质细胞在药物代谢和毒性评价中具有不可忽视的贡献。

伊立替康的肠-肝代谢与菌群干预: 伊立替康是一种用于结直肠癌化学治疗的拓扑异构酶I抑制剂, 其在体内的代谢过程涉及肠道菌群的直接参与, 是研究肠-肝轴芯片药物代谢功能的理想模型。伊立替康在肝脏中经羧酸酯酶代谢为活性形式SN-38, SN-38随后经UGT1A1葡萄糖醛酸化为无活性的SN-38G, 排入胆汁, 进入肠道; 在肠道内, 细菌的 β -葡萄糖醛酸苷酶可将SN-38G重新水解为SN-38, 后者可损伤肠道上皮, 并加重全身毒性^[22]。Lucchetti等^[22]利用其开发的MOoC平台(HuMiX肠道芯片+Dynamic42肝脏芯片)对伊立替康的肠-肝代谢进行了模拟, 通过LC-MS/MS法追踪, 研究团队成功检测到伊立替康、SN-38、SN-38G在系统中的动态浓度变化, 验证了该平台再现肠-肝代谢链条的能力; 进一步试验中, 研究人员在肠道腔室中引入与结直肠癌相关的大肠杆菌, 发现该菌显著促进了SN-38G向SN-38的转化, 导致体系内活性毒性代谢物的积累。这一发现不仅验证了菌群对药物代谢的直接干预效应, 也显示了肠-肝芯片在研究药物-菌群互作方面的应用潜力。

曲格列酮的免疫介导肝毒性: 特发性DILI(IDILI)是临床难以预测的药品不良反应(ADR), 其发生机制多涉及免疫系统介导的损伤过程。曲格列酮是一种曾用于2型糖尿病治疗的噻唑烷二酮类药物, 因引起严重的IDILI于2000年撤市。该药在临床试验前期的传统毒理学评价中未能预测其肝毒性风险, 凸显了现有评价体系的不足^[35]。Deng等^[35]建立了一种肝-免疫微生理系统, 将肝细胞与免疫细胞共培养, 用于评价曲格列酮的免疫性肝毒性, 结果显示, 曲格列酮处理可诱导免疫细胞活化, 并释放促炎因子, 导致肝细胞损伤标志物水平的升高。该研究强调了免疫细胞的引入对评价IDILI类肝毒性的必要性, 也为肠-肝芯片中整合免疫评价模块提供了新的方法学参考。

4.3 肠道屏障功能与肝毒性的关联评价

肠道屏障完整性的变化是连接肠道损伤与肝脏毒性反应的重要中间环节。在肠-肝芯片中, 跨上皮电阻

(TEER)是评价肠道屏障功能的常用指标,能实时反映紧密连接的完整性^[36]。Morelli等^[37]在肠芯片模型中系统评估了细胞因子对肠道屏障功能的影响,将多种细胞因子加入肠芯片培养体系后,研究人员观察到TEER值显著降低,同时伴有细胞结构损伤和肌动蛋白骨架重排。该研究建立了在芯片平台上定量评价屏障功能障碍的方法学。Morelli等^[38]在另一项研究中利用OrganoPlate平台建立了高通量肠芯片,对nigericin, ochratoxin A, patulin, melittin 4种肠毒素进行了剂量依赖性的屏障完整性评价,发现基于TEER的检测灵敏度高于传统Transwell模型。虽然目前直接在肠-肝芯片上同时评价肠道屏障变化和肝脏毒性响应的研究仍较少,但上述工作为将TEER监测整合到肠-肝芯片系统中提供了技术基础。理论上,当肠道屏障受损、TEER值下降时,肠腔内容物(包括内毒素和药物代谢产物)向门静脉侧的通透性增加,可加剧下游肝脏的炎症和损伤反应^[36]。这一“屏障-毒性放大”效应有望在未来的肠-肝芯片实验中得到直接验证。

4.4 与传统模型的对比验证

评估新型体外模型能否替代或补充传统方法的关键在于其与已知数据的吻合程度。在DILI预测方面,Zhang等^[39]开发了一种基于人肝脏类器官的高通量DILI风险预测平台,将类器官培养与器官芯片系统结合,对多个已知DILI阳性药物和DILI阴性药物进行盲测,结果显示,该平台能有效区分肝毒性药物与非肝毒性药物,预测结果与临床数据的一致性较好。在桥接动物模型与人体预测方面,Ewing等^[40]构建了一种四联肝脏芯片系统,用于评估富含大麻二酚的Cannabis提取物的肝毒性和药理学特性。该研究发现,芯片系统重现了此前在动物模型中观察到的肝毒理学和药理学指标,为芯片系统替代动物实验提供了直接证据。在模型可重复性验证方面,Lim等^[18]对英国CN Bio公司的PhysioMimix LC12肝脏微生理系统进行了系统的可重复性和鲁棒性评估,在不同培养条件和细胞类型组合下测试了该平台的性能表现。Fäs等^[41]开发了基于384孔微板格式的肝脏微组织系统,利用临床已知肝毒性药物验证了模型的预测性能。这些工作从不同角度为器官芯片在药物安全性评价中的可信度提供了数据支撑。

5 肠-肝轴器官芯片的技术优势与局限性

5.1 技术优势

肠-肝轴器官芯片在药物肝毒性评价中的应用优势具体表现在以下4个方面:1)生理相关性更强。与2D静态培养相比,芯片系统通过微流控灌注提供动态流体环境,能模拟体内剪切力对细胞形态和功能的影响,促进细胞分化和极性形成^[7]。多器官连接设计使药物从肠道吸收到肝脏代谢的完整过程得以在体外再现,为评价首过效应和多器官协同毒性提供了可能^[22,28]。

2)减少动物实验,符合3R原则[替代(replacement)、减少(reduction)、优化(refinement)]。器官芯片使用人体来源细胞,在种属相关性上优于动物模型^[42]。对于DILI这类存在显著种属差异的评价领域,人体来源的体外模型具有天然优势。3)可实时、多参数监测。集成传感器芯片能在培养过程中连续获取TEER、氧浓度、pH值、代谢物浓度等参数,提供比终点检测更丰富的时空信息^[16]。这种实时监测能力有助于揭示毒性反应的动态过程和时序特征。4)个性化评价潜力。利用患者来源的hiPSC分化细胞或原代细胞,可构建具有个体遗传背景差异的肠-肝芯片系统,为精准用药和个体化毒性预测提供工具^[27]。

5.2 局限性

尽管肠-肝轴器官芯片表现出明显的技术优势,但在实际应用中仍面临以下挑战:1)标准化与可重复性不足制约了该技术的广泛推广。不同研究团队采用的芯片结构、细胞来源、培养条件和检测方法差异较大,导致试验结果难以跨实验室比较和重复。Rogal等^[43]从开发者角度指出,器官芯片领域缺乏统一的性能评估标准和验证协议,这一问题亟需通过跨学科协作加以解决。2)细胞来源与功能成熟度限制了模型的生理真实性。目前常用的HepG2细胞在药物代谢酶表达方面与原代肝细胞存在较大差异^[12]。原代肝细胞虽功能完整,但体外培养时间有限(通常不超过1~2周),且来源受限于供体可用性^[26]。hiPSC来源的肝细胞和肝脏类器官在功能成熟度方面仍在持续改进中^[27]。3)芯片材料的药物吸附问题是影响ADME评价准确性的重要技术因素。PDMS作为器官芯片最常用的基底材料,因其疏水性可显著吸附小分子药物,导致系统中实际药物浓度低于理论添加量。Carius等^[31]的定量研究表明,以PDMS为基底材料的芯片中的化合物损失能达到不可忽视的程度。Wang^[24]等提出的PFPE替代方案为解决这一问题提供了思路,但新材料的应用仍需进一步验证。4)肠道厌氧菌与需氧细胞的共培养是肠-肝芯片特有的技术难点。厌氧菌需要严格的无氧环境(氧气含量<0.5%),而肝细胞和肠上皮细胞则需要含氧环境(氧气含量≥0.5%),两者在同一微流控系统内的协调培养目前尚无理想的解决方案^[6]。Lucchetti等^[22]采用的单一好氧菌策略虽实现了概念验证,但未能覆盖肠道核心厌氧菌群的功能。5)监管认可框架尚不健全。器官芯片作为一种新兴评价工具,目前尚未被美国食品和药物管理局(FDA)、欧洲药品管理局(EMA)、中国国家药品监督管理局(NMPA)等监管机构正式纳入药物安全性评价的技术指导原则^[44-45]。Mastrangeli等^[10]指出,在芯片技术被监管机构接受前,需建立完善的方法学验证体系,并通过与传统方法的系统对比数据积累监管信任。

6 展望

人工智能(AI)技术的引入有望在试验和药物筛选2个层面提升肠-肝芯片的应用效能。1)在试验层面,机器学习(ML)算法可用于高通量芯片数据的模式识别和特征提取,辅助识别早期毒性信号,并预测长期毒性结局^[46]。Graf等^[33]通过将芯片实测的PK/PD数据与计算模型实时交互,可动态优化试验方案,并预测未被直接测量的参数,显示了数字孪生框架与多器官芯片结合的可行性。Aravindakshan等^[47]进一步开发了DigiLoCS平台,以肝脏芯片的清除功能为核心建立了数字孪生预测模型。2)在药物筛选层面,AI驱动的试验设计优化可减少芯片筛选所需的试验次数和成本,提高先导化合物发现的效率。Mehta等^[46]将器官芯片等新型方法学(NAMs)与AI/ML技术并列视为现代化临床前药物开发的关键推动力。

利用患者来源hiPSC分化的肠道和肝脏类器官构建个性化肠-肝芯片,有望为精准用药提供新的评价工具。不同患者在药物代谢酶基因多态性(如UGT1A1*28)、肠道菌群组成、免疫应答特征等方面存在差异,这些因素均可能影响药物的疗效和安全性^[39]。个体化肠-肝芯片可在体外模拟特定患者的药物代谢和毒性响应,辅助临床制订个体化用药方案。目前,hiPSC来源细胞的规模化制备和成本控制仍是限制这一方向临床转化的主要瓶颈^[27]。

监管机构对器官芯片技术的态度正在逐步转变。2022年,美国通过的《FDA现代化法案2.0》取消了对动物实验的强制性要求,为器官芯片等替代方法的监管认可扫除了部分法律障碍^[48]。Anklam等^[45]系统梳理了新兴技术对监管科学的影响,指出器官芯片、类器官、计算毒理学等方法的融合将为下一代风险评估(NGRA)提供方法学支撑。Nitsche等^[44]讨论了器官芯片在化学品安全性评价NGRA框架中的潜在角色。但从技术成熟到监管采纳仍有一段距离。未来的工作需从以下3个方面持续推进:1)建立跨实验室的标准化验证协议;2)积累与临床数据直接对比的循证证据;3)开发符合监管要求的质量控制标准和性能指标体系^[10,43]。

从肠-肝双器官向更多器官扩展是技术发展的必然趋势。当前已有研究成功构建了肠-肝-肾^[49]、肠-肝-胎盘^[33]及更多器官的串联系统。在药物安全性评价中,肾毒性、心脏毒性和神经毒性是除肝毒性外的主要关注领域,将肾脏、心脏等器官单元纳入同一芯片系统,有望实现对药物多器官毒性的同步评价^[50]。此外,免疫系统的引入对于评价免疫介导的ADR具有特殊意义^[35]。Lin等^[49]已在肝-肾共培养芯片上实现了重复给药多药毒性的连续评价,为多器官扩展提供了方法学参考。

器官芯片技术的临床转化和广泛应用在一定程度上取决于其成本和可及性。目前,单个芯片系统的试验成本仍较高,限制了其在常规药物筛选中的应用。荷兰

Mimetas公司的OrganoPlate平台采用384孔板格式设计,在提升通量的同时降低了单次试验成本,是商业化推广的成功案例^[10]。未来,芯片制造工艺的标准化和规模化、即用型试剂盒的开发及自动化操作平台的建设,将是降低使用门槛的关键^[42]。

肠-肝轴器官芯片技术通过将肠道与肝脏的代谢功能整合到同一微流控系统中,为口服药物的肝毒性评价提供了具有较高生理相关性的体外平台。该技术在模拟药物首过代谢、追踪代谢产物动态变化、评价肠道屏障-肝脏毒性关联效应等方面已显示出明确的应用价值。以APAP和伊立替康为代表的具体案例研究证实,肠-肝芯片能再现体内药物代谢和毒性响应的关键特征,并在揭示菌群对药物代谢的干预效应方面具有独特优势。与此同时,该技术在标准化、细胞来源、材料吸附、菌群共培养、监管认可等方面仍面临显著挑战。AI与数字孪生技术的融合、患者特异性模型的开发、多器官系统的扩展、监管框架的逐步完善,将是推动该领域发展的主要方向。未来应加强跨学科协作,建立统一的验证标准,积累与临床数据的对比证据,促进肠-肝轴器官芯片从实验室技术转向药物安全性评价常规工具。

参考文献

- [1] Björnsson H K, Björnsson E S. Drug - induced liver injury: Pathogenesis, epidemiology, and practical management [J]. Eur J Intern Med, 2022, 97: 26 - 31.
- [2] Li X Y, Tang J T, Mao Y M. Incidence and risk factors of drug - induced liver injury [J]. Liver Int, 2022, 42 (9): 1999 - 2014.
- [3] Hosack T, Damry D, Biswas S. Drug - induced liver injury: a comprehensive review [J]. Ther Adv Gastroenterol, 2023, 16: 17562848231163410.
- [4] Allison R, Guraka A, Shawa I T, et al. Drug induced liver injury: an update [J]. Arch Toxicol, 2020, 94 (10): 3381 - 3407.
- [5] Lee S H, Choi N, Sung J H. Pharmacokinetic and pharmacodynamic insights from microfluidic intestine - on - a - chip models [J]. Expert Opin Drug Metab Toxicol, 2019, 15 (12): 1005 - 1019.
- [6] Lucchetti M, Kaminska M, Oluwasegun A K, et al. Emulating the gut - liver axis: Dissecting the microbiome's effect on multi-organ - on - chip models [J]. Curr Opin Endocr Metab Res, 2021, 18: 94 - 101.
- [7] Mittal R, Woo F W, Castro C S, et al. Organ - on - chip models: Implications in drug discovery and clinical applications [J]. J Cell Physiol, 2019, 234 (6): 8352 - 8380.
- [8] Huh D, Matthew B D, Mammoto A, et al. Reconstituting organ - level lung functions on a chip [J]. Science, 2010, 328 (5986): 1662 - 1668.
- [9] Sung J H. A body - on - a - chip (BOC) system for studying gut - liver interaction [J]. Methods Cell Biol, 2020, 158: 1 - 10.
- [10] Mastrangeli M, Van Den Eijnden - Van Raaij J. Organs - on - chip: the way forward [J]. Stem Cell Reports, 2021, 16 (9): 2037 - 2043.

- [11] Guo Y, Chen X F, Gong P, et al. The gut – organ – axis concept; advances the application of gut – on – chip technology[J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(4):4089.
- [12] Fu J Y, Qiu H L, Tan C S. Microfluidic liver – on – a – chip for preclinical drug discovery [J]. *Pharmaceutics*, 2023, 15(4):1300.
- [13] De Gregorio V, Telesco M, Corrado B, et al. Intestine – liver axis on – chip reveals the intestinal protective role on hepatic damage by emulating ethanol first – pass metabolism [J]. *Front Bioeng Biotechnol*, 2020, 8:163.
- [14] Chidiac A S, Buckley N A, Noghrehchi F, et al. Paracetamol (acetaminophen) overdose and hepatotoxicity: mechanism, treatment, prevention measures, and estimates of burden of disease [J]. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*, 2023, 19(5):297 – 317.
- [15] Obeid P J, Yammine P, El – Nakat H, et al. Organ – on – a – chip devices: technology progress and challenges [J]. *Chembiotech*, 2024, 25(23):e202400580.
- [16] Izadifar Z, Charrez B, Almeida M, et al. Organ chips with integrated multifunctional sensors enable continuous metabolic monitoring at controlled oxygen levels [J]. *Biosens Bioelectron*, 2024, 265:116683.
- [17] Abokor F A, Yazeedi S A, Baher J Z, et al. Exploring multi – organ crosstalk via the TissUse HUMIMIC chip system: lessons learnt so far [J]. *Biotechnol Bioeng*, 2025, 122(11):2951 – 2966.
- [18] Lim A Y, Kato Y, Sakolish C, et al. Reproducibility and robustness of a liver microphysiological system PhysioMimix LC12 under varying culture conditions and cell type combinations [J]. *Bioengineering*, 2023, 10(10):1195.
- [19] Kim R, Sung J H. Microfluidic gut – axis – on – a – chip models for pharmacokinetic – based disease models [J]. *Biomicrofluidics*, 2024, 18(3):031507.
- [20] Kimura H, Nishikawa M, Kutsuzawa N, et al. Advancements in microphysiological systems: exploring organoids and organ – on – a – chip technologies in drug development [J]. *Drug Metab Pharmacokinet*, 2025, 60:101046.
- [21] Sakthivel V, Dharshan S S, Namasivayam S K R, et al. Advances in 3 D organoids and organ – on – a – chip systems for biomedical research [J]. *J Biomed Mater Res A*, 2026, 114(1):e70028.
- [22] Lucchetti M, Oluwasegun A K, Grandmougin L, et al. An organ – on – chip platform for simulating drug metabolism along the gut – liver axis [J]. *Adv Healthc Mater*, 2024, 13(20):e2303943.
- [23] Yang J D, Hirai Y, Lida K, et al. Integrated – gut – liver – on – a – chip platform as an *in vitro* human model of non – alcoholic fatty liver disease [J]. *Commun Biol*, 2023, 6(1):310.
- [24] Wang M Y, Sasaki Y, Sakagami R, et al. Perfluoropolyether – based gut – liver – on – a – chip for the evaluation of first – pass metabolism and oral bioavailability of drugs [J]. *ACS Biomater Sci Eng*, 2024, 10(7):4635 – 4644.
- [25] Moerkens R, Mooiweer J, Ramirez – Sanchez A D, et al. An iPSC – derived small intestine – on – chip with self – organizing epithelial, mesenchymal, and neural cells [J]. *Cell Rep*, 2024, 43(7):114247.
- [26] Novac O, Silva R, Young L M, et al. Human liver microphysiological system for assessing drug – induced liver toxicity *in vitro* [J]. *J Vis Exp*, 2022(179):e63389.
- [27] Chen X Y, Bao F, Liu J Y, et al. A human liver organoids – on – chip for the assessment of drug – induced liver injury [J]. *BMC Pharmacol Toxicol*, 2026, 27(1):30.
- [28] Yu Y, Sun B Y, Ye X, et al. Hepatotoxic assessment in a microphysiological system: simulation of the drug absorption and toxic process after an overdosed acetaminophen on intestinal – liver – on – chip [J]. *Food Chem Toxicol*, 2024, 193:115016.
- [29] Feng J J, Hedtrich S. A similarity scaling approach for organ – on – chip devices [J]. *Lab Chip*, 2022, 22(19):3663 – 3667.
- [30] Mennella R, Sibilio S, Urciuolo F, et al. Flow – induced mechano – modulation of intestinal permeability on chip [J]. *Mater Today Bio*, 2025, 33:101951.
- [31] Carius P, Weinelt F A, Cantow C, et al. Addressing the ADME challenges of compound loss in a PDMS – based gut – on – chip microphysiological system [J]. *Pharmaceutics*, 2024, 16(3):296.
- [32] Puschhof J, Pleguezuelos – Manzano C, Clevers H. Organoids and organs – on – chips: insights into human gut – microbe interactions [J]. *Cell Host Microbe*, 2021, 29(6):867 – 878.
- [33] Graf K, Murrieta – Coxca J M, Vogt T, et al. Digital twin – enhanced three – organ microphysiological system for studying drug pharmacokinetics in pregnant women [J]. *Front Pharmacol*, 2025, 16:1528748.
- [34] Messelmani T, Le Goff A, Soncin F, et al. Investigation of the metabolomic crosstalk between liver sinusoidal endothelial cells and hepatocytes exposed to paracetamol using organ – on – chip technology [J]. *Toxicology*, 2023, 492:153550.
- [35] Deng Q F, Yang Y L, Liu Y G, et al. Assessing immune hepatotoxicity of troglitazone with a versatile liver – immune – microphysiological – system [J]. *Front Pharmacol*, 2024, 15:1335836.
- [36] Koziolok M, Augustijns P, Berger C, et al. Challenges in permeability assessment for oral drug product development [J]. *Pharmaceutics*, 2023, 15(10):2397.
- [37] Morelli M, Savova M V, Queiroz K, et al. Cytokine – induced barrier dysfunction and lipid signaling in a gut – on – chip model [J]. *FASEB J*, 2025, 39(19):e71059.
- [38] Morelli M, Rodriguez M C, Queiroz K, et al. A high – throughput gut – on – chip platform to study the epithelial responses to enterotoxins [J]. *Sci Rep*, 2024, 14(1):5797.
- [39] Zhang C J, Meyer S R, O'Meara M J, et al. A human liver organoid screening platform for DILI risk prediction [J]. *J Hepatol*, 2023, 78(5):998 – 1006.
- [40] Ewing L E, Skinner C M, McGill M R, et al. Human quad liver – on – chip system as a tool toward bridging the gap between animals and humans regarding toxicology and pharmacology of a cannabidiol – rich cannabis extract [J]. *Drug Chem Toxicol*, 2025, 48(3):578 – 585.
- [41] Fäs L, Chen M J, Tong W D, et al. Physiological liver microtissue 384 – well microplate system for preclinical hepatotoxicity