

骨类器官的构建策略、生物材料创新与再生医学应用前沿

徐雪^{1,2,3*}, 周玉婷^{1,2,3}, 杨聪^{1,2,3}, 张晓南^{1,2,3#}

¹重庆医科大学附属口腔医院, 重庆

²口腔疾病与生物医学重庆市重点实验室, 重庆

³重庆市高校市级口腔生物医学工程重点实验室, 重庆

收稿日期: 2025年11月19日; 录用日期: 2026年1月8日; 发布日期: 2026年1月16日

摘要

骨类器官作为体外模拟骨组织发育与功能的微型三维模型, 在骨再生机制研究、药物筛选及个性化医疗策略开发中展现出巨大潜力。本综述系统梳理了骨类器官构建的核心策略, 涵盖细胞来源的优化、生物材料的设计与微环境的精准调控, 重点探讨了水凝胶、生物微粒、生物反应器等工程化技术在提升类器官结构完整性与功能成熟度方面的作用。文章进一步总结了骨类器官在疾病建模、药物筛选、毒性评估及个性化治疗中的最新应用进展, 并指出当前面临的挑战, 如血管化不足、标准化缺失与力学性能不足等问题。最后, 对未来骨类器官在标准化构建、功能集成与临床转化方面的前景进行了展望, 强调其在推动骨再生医学发展中的关键作用。

关键词

类器官, 骨组织工程, 骨再生医学, 生物材料, 构建方法

Bone Organoids: Construction Strategies, Biomaterial Innovations, and Frontiers in Regenerative Medicine

Xue Xu^{1,2,3*}, Yuting Zhou^{1,2,3}, Cong Yang^{1,2,3}, Xiaonan Zhang^{1,2,3#}

¹Stomatological Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing

²Chongqing Key Laboratory of Oral Diseases and Biomedical Sciences, Chongqing

³Chongqing Municipal Key Laboratory of Oral Biomedical Engineering of Higher Education, Chongqing

*第一作者。

#通讯作者。

文章引用: 徐雪, 周玉婷, 杨聪, 张晓南. 骨类器官的构建策略、生物材料创新与再生医学应用前沿[J]. 生物医学, 2026, 16(1): 82-94. DOI: 10.12677/hjbm.2026.161009

Received: November 19, 2025; accepted: January 8, 2026; published: January 16, 2026

Abstract

Bone organoids, as miniature three-dimensional models that recapitulate bone development and physiological functions *in vitro*, offer a promising platform for investigating bone regeneration mechanisms, drug screening, and personalized therapeutic strategies. This review comprehensively outlines the core strategies for constructing bone organoids, focusing on the optimization of cell sources, the design of biomaterials, and the precise regulation of the microenvironment. We highlight the roles of engineered technologies—such as hydrogels, bioparticles, and bioreactor systems—in enhancing structural integrity and functional maturation. Furthermore, we summarize recent advances in the application of bone organoids for disease modeling, drug screening, toxicity assessment, and personalized medicine, while addressing existing challenges including inadequate vascularization, lack of standardization, and insufficient mechanical properties. Finally, we provide a forward-looking perspective on the standardization, functional integration, and clinical translation of bone organoids, underscoring their pivotal potential in advancing bone regenerative medicine.

Keywords

Organoids, Bone Tissue Engineering, Bone Regeneration Medicine, Biomaterials, Construction Methods

Copyright © 2026 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

据统计, 全球约有 1/4 的成年人受骨关节炎等骨退行性疾病困扰, 而创伤性骨折每年新增病例数以千万计。一些轻微的骨损伤无需手术即可轻松愈合, 此过程依赖于人体自我更新和再生的能力[1]。然而, 当骨缺损或者损伤超过临床愈合限度时, 医生通常采取的方法是移除受损组织, 使用同种或异种移植物进行替换, 尽管在临床上这些方法满足大部分骨组织相关疾病的需要, 但是它们总是受到各种局限以及并发症的困扰, 如供体区损伤和免疫排斥反应[2]。

现有的传统组织工程修复技术以及经典的二维培养模型无法准确模拟骨组织在体内的真实生理状态, 限制了对骨相关疾病发病机制的研究以及药物研发的进程。因此, 在临床实际中迫切需要搭建模拟正常或疾病状态下的骨组织平台, 深入了解骨组织的生理病理机制, 借此开发高效的治疗手段。类器官技术作为一项新兴的前沿科技, 近年来发展迅猛。类器官最早可追溯于 1907 年威尔逊发现的海绵细胞自组织现象, 此后 1987 年间充质干细胞发现及 1998 年人胚胎干细胞分离为其提供关键支撑, 2009 年 Hans Clevers 团队构建的肠类器官[3]标志其进入快速发展期, 此后脑、肝、肾、胰等类器官被成功构建。人类类器官是从人类干细胞中提取的类器官三维体外培养物, 重现了在体内观察到的关键解剖和生理特征[4]。骨类器官作为类器官领域的重要分支, 具有独特的研究意义。它能够在体外精准模拟骨组织的发育过程、生理功能以及病理状态, 为深入探究骨退行性疾病的发病机制提供了理想的模型。通过骨类器官, 科研人员可以直观观察到骨细胞在接近体内环境下的行为变化、细胞间信号传导以及与细胞外基质的相互作用, 这是传统研究手段难以实现的。此外, 在药物研发方面, 骨类器官能够更真实地反映药物对骨组织

的作用效果，大大提高药物筛选的准确性和效率，有望加速新型抗骨病药物的问世，为临床治疗带来新的希望。

2. 骨类器官的构建策略

骨类器官的构建是一个系统工程，其成功与否取决于三大核心维度的协同作用：细胞来源、支架材料与微环境设计、以及构建技术与培养系统。

2.1. 细胞来源

骨以及软骨的修复过程由多种细胞协同作用，造血干细胞提供免疫支持，骨祖细胞、成骨细胞等参与新骨形成与代谢调节，破骨细胞负责骨吸收，二者在骨形成矿化以及吸收间达到平衡状态。人类间充质干细胞被认为是多能细胞，存在于成人骨髓中，可以作为未分化细胞进行复制，Pittenger 等(1999)首次证实其能够分化为间充质组织谱系，包括骨、软骨、脂肪、肌腱、肌肉和骨髓基质[5]。骨骼干细胞可分化为软骨细胞参与软骨形成，成熟软骨细胞能合成细胞外基质、释放修复因子促进软骨再生，但自身内在修复能力有限。即使在体外软骨形成的条件下，合成的基质主要是 I 型胶原，其产生的是纤维软骨，而不是天然骨组织的透明软骨[6]。骨细胞调节骨代谢，软骨细胞移植可增强软骨修复，各类细胞依其来源和特性在骨与软骨的修复重塑中发挥着不可替代的作用[7] (见表 1)。

Table 1. Cell sources for bone organoid culture
表 1. 骨类器官培养的细胞来源

细胞类型	来源	主要功能	关键特性
造血干细胞	骨髓(主要)、脐带血、外周血(动员后)	提供免疫支持、保障修复微环境	具有自我更新和多向分化潜能 (仅局限于造血谱系)，无法直接成骨/软骨
骨祖细胞	骨髓间充质干细胞、骨膜成纤维细胞、骨小梁旁未分化细胞	修复启动、细胞储备、代谢调节	增殖能力强，是骨与软骨修复的“种子细胞前体”
成骨细胞	骨祖细胞分化而来	合成骨基质、促进矿化、信号调控	调节钙磷沉积，分泌 IGF 等细胞因子“可分化为骨细胞”
破骨细胞	骨髓造血干细胞分化的单核细胞融合形成(属于单核 - 巨噬细胞谱系)	骨吸收、重塑平衡	——
人类间充质干细胞	成人骨髓、脐带华通氏胶、脂肪组织、滑膜组织	自我更新、多向分化(骨，软骨、脂肪、肌腱等)、微环境调节	多能细胞，具有低免疫原性；Pittenger 等(1999)首次证实其分化潜能[5]
骨骼干细胞	骨髓间充质干细胞亚群、骨膜干细胞、关节软骨下骨干细胞	定向分化、修复骨 - 软骨连接区、维持稳态	定向分化潜能更强，在关节损伤修复中应用潜力巨大
成熟软骨细胞	骨骼干细胞分化的软骨前体细胞进一步成熟	合成软骨基质、促进再生、维持软骨机械稳定性	自身修复能力有限，增殖能力弱
骨细胞	成骨细胞被骨基质包埋后分化而来	代谢调节、机械感知、基质修复	受雌激素、维生素 D 调控

2.2. 支架材料与微环境设计

骨 ECM 是一个复杂的三维结构，主要由 I 型胶原(干重 >95%)和少量无定形基质组成，含有有机和无机成分，含水量极少。细胞外基质(extracellular matrix, ECM)是组织以及细胞发育和维持功能必不可少的部分，在不同的细胞和组织中充当不同的结构和功能支持。ECM 通过其物理性质(刚度、拓扑结构、孔隙率等)和生化信号(细胞连接、细胞因子等)共同构成复杂的微环境，诱导间充质干细胞的不同分化方向[8]。因此，在体外精确设计与天然骨 ECM 相似的支架材料是构建功能化骨类器官的基础。

2.2.1. 水凝胶

Matrigel 为 Engelbreth-Holm Swarm 小鼠肉瘤细胞分泌的天然 ECM, 由于其提供了生理性的氧气及代谢梯度, 可诱导干细胞分化并支持骨类器官的生长[9]。然而, 其异种来源和成分的高度复杂(包含多种未知的生长因子)常常干扰对骨类器官内在信号通路的研究, 导致实验结果差异较大, 限制了其在标准化研究及临床转化中的应用。因此, 一系列成分明确、可工程化的天然/合成水凝胶被开发出来, 如海藻酸盐、纤维蛋白、胶原蛋白和透明质酸等[10] [11]。这些材料通过包埋成骨相关细胞, 提供高度含水的 3D 环境, 显著提高细胞的存活率并维持其成骨分化潜能[12]。近日有研究将磷酸钙寡聚体(CPO)掺入骨源性脱细胞细胞外基质(ECM)和鲑鱼衍生的脱氧核糖核酸(DNA)形成了一种双网络结构仿生基质水凝胶, 能促进骨髓间充质基质细胞(BMSC)的自组织、增殖、成骨和血管生成[13]。此外, 水凝胶的另一个主要特性为可注射性, 作为细胞的递送载体, 可直接植入骨缺损部位进行原位修复[14]。然而, 水凝胶的应用仍面临挑战。其力学强度通常不足以支撑承重骨的修复, 且其内部的复杂物理化学参数(如交联密度、配体密度、降解速率等)对类器官形成的影响尚未被完全阐述。例如, 虽然有学者开发了一种动态 DNA/明胶甲基丙烯酰(GelMA)水凝胶(CGDE)能提供适宜的黏弹度并加速骨再生[15]。但目前缺乏一套标准化的参数体系来指导针对不同骨类器官亚型的最优培养条件设计。

2.2.2. 生物微粒

生物微粒(如羟基磷灰石颗粒、聚合物微球)在骨类器官构建中扮演着微环境调节器的角色。干细胞球培养由于随着球尺寸的增加核心部分无法得到氧气和营养物质而变得困难。引入负载生长因子(如 BMP-2)或无机离子(如 Ca^{2+} 、 PO_4^{3-})的微粒可调节球体微环境, 持续释放信号分子, 促进成骨分化。先前的研究表明, 包裹微纤维材料的尿源干细胞可以通过改善细胞球内的空间结构, 促进氧气及营养物质的交换并促进诱导成骨分化[16]。然而, 颗粒在诱导其他干细胞分化的同时, 也会抑制特定干细胞的分化。这是通过控制机械转导机制来实现的。微粒的物理特性, 包括其尺寸、刚度、表面形貌和降解性, 是决定其机械转导效应的关键因素。比如, 较硬的颗粒可能更有效地激活成骨分化, 但若刚度过高或分布不当, 也可能过度抑制细胞间通讯, 导致骨类器官结构异常。

2.3. 构建技术与培养系统

骨类器官的大体形状为球形, 由大量单个细胞自组织形成, 因此钙粘蛋白以及整合素的分泌在骨类器官早期的形成过程中起到了关键作用, 首先, 存在于悬浮液中的单个细胞团聚形成松散粘附的细胞球。在这一步骤中, 细胞外基质纤维, 包括外周细胞表面与整合素的互补结合完成初步的聚集, E-钙粘蛋白通过在外周细胞的钙粘蛋白之间的连接, 促进初始细胞聚集体的强粘附[17]。培养初期, hMBSCs 保持一定的增殖活性, 随着 BMSCs 进一步分化, 约第 7~10 天, 细胞从增殖型逐渐向分化型转换, 成骨相关转录因子(如 RUNX2, Osteix)开始高表达, 标志着成骨分化的启动[18]。分化早期, 细胞逐渐转变成类似成骨细胞的多角形或立方形并分泌细胞外 ECM (如 I 型胶原, 骨桥蛋白)相互连接, 细胞外基质(ECM)逐渐沉积与矿化[19]。随着 BMSCs 的进一步成熟, 成骨细胞特异性标志物(如骨钙素 OCN, 骨桥蛋白 OPN)表达显著升高, 细胞开始合成以及分泌矿化前体[20] [21]。成骨分化晚期, 细胞启动矿化功能, 羟基磷灰石晶体逐渐累积, 细胞变小并嵌入 ECM 中形成强粘附的多细胞球体, ECM 逐渐矿化[22]。此部分主要介绍骨类器官不同构造方法。

2.3.1. 悬浮培养

经典的类器官培养方法是通过悬浮培养系统实现, 这种方法尤其适合于形成球状结构。间充质干细胞(MSCs)的球体培养系统已建立多种方法, 包括无粘附表面培养、悬滴培养和旋转培养等[23]。无粘

附表面培养利用经过特殊处理的培养器皿表面降低细胞与培养表面的粘附能力。间充质干细胞在培养过程中无法贴壁生长, 会因自身的聚集特性而逐渐抱团, 最终形成球体[24]。该方法操作相对简便, 成本较低, 适合大规模培养, 不过形成的球体可能会因初始细胞接种密度的不同导致重复性和均一性不佳。另外, 还有一些悬浮培养方法也常用于间充质干细胞球体培养。例如摇瓶培养, 通过摇瓶的持续摇动使细胞悬液处于动态悬浮状态, 依靠液体的流动防止细胞贴壁, 促进细胞聚集形成球体。其设备简单, 易于实现大规模培养, 但需要精确控制摇速, 以避免摇速过高对细胞造成损伤或摇速过低导致细胞沉降贴壁。磁悬浮培养方法则通过负磁泳模拟失重状态, 促进间充质干细胞间的聚集, 此方法还可促进多细胞间的共培养[25]。然而磁悬浮培养中人为操纵的重力可以导致细胞结构的变化, 并可以导致细胞凋亡[26]。

2.3.2. 生物反应器(Bioreactor)动态培养

(1) 旋转反应器(SBR)

旋转培养借助旋转生物反应器等设备, 使细胞悬液在持续旋转的环境中保持悬浮状态[27]。通过轴向或径向叶轮产生流体剪切力, 优化氧合和营养交换[28]。经过优化后的 SBRs 旋转产生的流体剪切力既能防止细胞贴壁, 又能促进营养物质与细胞的充分接触, 同时有助于细胞均匀聚集形成球体。有研究表明 SBR 能提高细胞的存活率以及分化速度[29]。Lancaster 等证明对于大型好氧脑类器官的培养说 SBRs 改善了氧气的传输和营养物质的吸收, 减少缺氧核心, 最后能产生比静态条件下生长尺寸更大, 活性更好的脑类器官[30]。Junichi Takahashi 等人在旋转生物反应器的优化条件下, 生成的球体快速生长并成熟为具有支持间充质的大型人类肠道类器官[31]。该方法适合大规模培养, 可获得数量较多的球体, 且球体内部的营养和氧气分布相对均匀, 有利于球体的长期稳定生长。但是对于某些对剪切力敏感的组织来说, 力量及旋转速率设计不当可能会导致类器官的损坏, 例如抑制分化或破坏纤毛和微绒毛等精细结构。

(2) 微流控生物反应器(MFB)

MFB 一般由一个或多个进气口、一系列小通道和腔室以及一个或多个出气口组成, 通过微通道精确控制微环境, 整合传感器实时监测。传统骨类器官的培养系统存在均一化程度低、血管化不足以及微环境控制不佳等挑战[32]。微流控装置可实现类器官的动态培养, 通过连续流体灌注改善营养物质交换和代谢废物清除, 促进类器官成熟及长期培养[33]。类器官培养面临着中心缺血坏死的风险, 流体剪切力可以影响内皮细胞连接并促进其组装成血管网络, hiPSCs 与人内皮细胞在微流控芯片中共培养时, 在微流控系统的对流体剪切力的精确调节下可观察到肾类器官内大量血管形成[34]。传统方法对于培养大量大小均一的类器官来说耗时耗力, 然而均一化的类器官批量生产对于类器官参与药物测试的一致性结果以及再生医学的应用具有重要意义, 3D 矩阵或微阵列(如微孔和微柱)已协同应用于微流控装置培养类器官球的过程中, 前者可用于悬浮和培养已经形成的球体[35][36], 后者依靠几何引导, 可支持细胞球体的原位形成和 3D 培养并实现均一化类器官的规模化生产。Zhao 等开发了一种微流控辅助的策略, 利用骨髓间充质干细胞(BMSCs)实现骨再生[37]。本研究利用液滴微流控技术将 BMSCs 和生长因子共同包裹到移植到兔股骨缺损处的 GelMA 微凝胶中。结果表明, 细胞负载的微凝胶在移植 4 周后有效地促进了新骨的形成, 骨体积和类骨质形成的程度证实了这一点。有学者结合声流控设备设计、传感器融合和智能控制器集成的自动化系统开发了基于智能声流体的微型生物反应器, 并证明了微型生物反应器可以在长期培养过程中维持类器官的旋转速度, 增强类器官均匀性[38]。然而, 此方法面临着诸多挑战, 如微流控所需的微零件数量多且制造复杂的制造来维持精确的维持流体流动的控制, 某些材料生物相容性差且倾向于吸附某些毒素和生物因子, MFBs 用于培养不同类器官的装置并未统一, 仍随着培养需要不同而改变, 因此制作成本较大, 并且由于结构的复杂性和材料的特殊性导致长期培养灭菌困难[39][40]。

2.3.3. 3D 支架生物材料辅助培养

此策略主动利用预制的多孔三维支架(如基于 PLGA、PCL、TCP 或复合材料的支架)为细胞提供物理支撑和引导。其核心优势在于能够高度仿生天然骨的宏观和微观结构，通过精确调控支架的孔隙率、孔径，促进细胞迁移、营养输送和血管长入，并引导有序的矿化[41][42]。然而，该技术的瓶颈在于支架降解速率与新生骨组织生长速率难以完美匹配，过快降解导致支撑丧失，过慢降解则阻碍组织重塑和整合。此外，如何在这种静态培养体系中实现有效的预血管化，仍是巨大挑战。

不同的构建技术各有其内在优势及局限性，适用于不同的研究目标和应用场景(见表 2)。进行基础生物学研究且预算有限，可选择悬浮培养或水凝胶培养。追求高通量药物筛选和数据一致性，则可利用 MFB 或集成微阵列的 SBR，此方法虽前期投入较大，但可获得稳定的结果。当面对临床修复大段骨缺损，3D 打印的生物活性支架或可注射的水凝胶更具转化潜力。同时，生物微粒作为一种辅助手段，能与其他技术联用，有针对性地解决特定分化或营养输送的问题。

Table 2. Comparison of organoid construction technologies
表 2. 类器官构建技术对比

培养方式	核心技术	支架/材料	优势	局限性
3D 支架生物材料辅助培养	利用多孔支架提供物理支撑	天然材料：胶原蛋白、壳聚糖、明胶合成材料； PLGA、PCL、TCP 复合材料：羟基磷灰石/胶原蛋白	仿生结构促进细胞分化和矿化；可调节支架孔隙率和力学性能	支架降解速率与骨再生匹配困难；血管化不足
悬浮培养	细胞自发性聚集和分泌 ECM 形成 3D 结构	无支持性支架(依赖细胞外基质自分泌)	ECM 成分更接近天然骨；成本低	结构松散，机械强度不足；难以控制形态和尺寸
旋转反应器 (SBR)	结合灌注、旋转或机械应力，模拟体内动态微环境	水凝胶(如 Matrigel)、3D 打印支架	促进营养物质运输和代谢废物排出；增强细胞-细胞通讯和矿化效率	设备成本高；需精确控制流体参数和机械刺激强度
微流控生物反应器 (MFB)	通过微通道精确控制微环境，整合传感器实时监测	微流控芯片	对流体剪切力精准调控；可实现类器官均一化的规模化生产	成本大，材料制作困难，长期培养灭菌困难
水凝胶	为类器官的生长提供生理性的氧气及代谢梯度	小鼠提取的天然 ECM；海藻酸盐、纤维蛋白、胶原蛋白和透明质酸制备类 ECM 水凝胶	提高细胞的存活率；稳定促进细胞成骨分化特性以及血管生成能力；直接递送细胞	类器官的相关培养参数欠标准化；无支架导致强度欠佳
生物微粒	提供间充质干细胞分化所需细胞外分子	羟基磷灰石颗粒；丝束蛋白等	改善细胞球内的空间结构，调节细胞外 ECM，促进氧气及营养物质的交换并促进诱导成骨分化	可能促进细胞偏性分化；阻碍细胞间黏附分子的产生

3. 骨类器官构建的研究进展

一般来说，生理性骨形成主要有两种方式，包括膜内成骨和软骨内成骨。细胞外基质作为骨形成相关细胞的生存和支持的三位立体空间，在成骨分化以及成熟方面起着不可或缺的作用。对于体外骨类器官来说，通过不同材料、生物分子等对成骨细胞的增殖和分化起到诱导作用模仿骨发育、形成、成熟的过程来说具有重大的研究意义。骨类器官的构建无疑是组织工程和再生医学的重大突破。2017 年，Alexandra Iordachescu 等首次提出了骨类器官的概念。他们通过将成骨细胞掺入到含磷酸钙的纤维素凝胶中，成功实现了成骨细胞的自组装，形成了类似于天然骨的多级结构和成骨细胞网络。此外，研究中还

引入了 OBs 来模拟骨吸收和骨形成的过程[43], 从而构建了一个全面的骨形成模型。这一发现为骨组织工程和再生医学提供了新的研究工具和平台。此后, 骨类器官领域快速发展, 相关研究人员致力于模仿与天然骨组织功能、结构、组成相似的一类器官, 以提供药物测试, 发育过程的探索 and 大规模骨缺损的修复研究。骨组织可细分为致密骨和松质骨, 下面将从骨器官构成的不同方面介绍骨类器官构建的相关尝试。

3.1. 编织骨类器官

生理状态下, 骨折断端周围骨膜深层骨祖细胞(Osteoprogenitor Cells)直接分化为成骨细胞, 无需经过软骨阶段即可合成骨基质并矿化, 形成薄层编织骨, 覆盖于骨折断端表面及骨皮质边缘。早期即可为骨折断端提供一定稳定性。编织骨由不规则的胶原蛋白排列组成, 是胚胎期和早期骨折形成的组织, 力学程度较低, 随着编织骨的成熟逐渐矿化成板层骨。在一项研究中, 将人骨髓间充质干细胞种植到 3D 丝素蛋白支架上, 通过成骨细胞和骨细胞的自组装共培养, 骨类器官的发育是编织骨形成的早期阶段的功能模型[44]。然而, 这些类器官中的胶原基质显得杂乱无章, 缺乏成骨细胞在成骨重塑过程中的参与。虽然编织骨属于成熟骨组织的前体, 但这也为我们在体外构建成熟的骨类器官提供了思路。从编织骨到成骨矿化及形成往往需要漫长的时间, 在这期间需要提供促进细胞持续生长和增殖的培养条件。

3.2. 骨痂类器官

骨痂(Callus)是骨折愈合过程中, 骨组织修复再生形成的纤维性、软骨性或骨性结缔组织复合物, 其形成本质是 MSCs 在缺损区域主动汇集并分化形成的软骨-骨核心。该过程严格依赖骨折局部微环境调控, 伴随着成纤维细胞向软骨细胞的分化, 软骨基质的合成以及血管侵入, 同时细胞肥大、钙化、凋亡, 为成骨细胞迁移提供条件。成骨细胞(主要来源于骨膜成骨细胞前体)在钙化软骨基质表面增殖、分化, 合成 I 型胶原及骨基质, 形成编织骨(Woven Bone), 逐步替代软骨性骨痂, 最终形成骨性骨痂的核心部分。Chang 等研究发现, 与以往组织工程研究的 2~3 个月相比, 骨痂器官在骨缺损明显的兔子中仅 4 周就实现了快速的骨再生[45]。Aonan Li 等研究发现, 利用 DPSCs 的血管生成能力与 BMSCs 共培养成功地制造了带血管化的无支架骨痂类器官, 这种带血管的骨痂类器官改善了氧气和营养物质运输困难的问题, 并增加了矿化沉积[46]。骨痂类器官大多通过单个干细胞构成, 多起到促进骨缺损愈合的作用。

3.3. 小梁骨类器官

小梁骨(Trabecular Bone)是骨骼系统的重要组成部分, 主要分布于长骨末端、椎体及扁骨内部, 是一种 3D 网络结构, 可以维持血钙浓度稳定、调节代谢、造血和能量缓冲, 以维持骨骼的功能。Yongkuk Park 等使用脱钙皮质骨纸(DBP)引导成骨细胞沉积结构性矿化骨组织并通过化学引导破骨细胞的生成, 成功构建了骨小梁类器官[47]。Hongling Qin 等模仿天然骨小梁结构, 利用 DLP 的精确制造约 58%孔隙率具有适当孔径的硅酸钙(Ca)生物陶瓷实现了新骨向内生长, 从而加速再生和修复[48]。

3.4. 骨髓类器官

人的骨髓(bone marrow, BM)是存在于长骨髓腔和松质骨间隙的海绵状组织, 具有造血功能与微环境调控功能, 参与造血、免疫和维持矿物质平衡。BMOs 由基本的细胞类型组成, 它们自组织形成具有天然骨髓组织功能的 3D 复合体。Stephanie Frenz-Wiessner 等利用人诱导多能干细胞(iPSCs)构建了具有体内样血管网络、多能间充质干细胞/祖细胞、中性粒细胞分化以及对炎症刺激的反应的骨髓类器官(BMOs), 并且成功模拟 VPS45 缺乏症(一种罕见骨髓衰竭疾病)的病理特征, 包括骨髓纤维化和中性粒细胞凋亡,

为基因缺陷型血液病研究提供模型[49]。Aude-Anais Olijnik 等使用一系列细胞因子混合物和水凝胶包埋对 hiPSC 进行定向分化生成三维、多系骨髓类器官, 且经过 18 天的分化, hiPSC 产生中央骨髓生成骨髓中的关键谱系, 支持在可扩展的三维微环境中模拟健康和紊乱的造血[50]。

3.5. 软骨类器官

软骨是一种无血管的结缔组织, 由软骨细胞和富含 II 型胶原、蛋白聚糖的细胞外基质(ECM)构成, 由于缺乏血管和神经, 其自我修复能力有限, 成年后软骨缺损的自然修复率不足 5%。关节软骨(透明软骨)通过其多孔弹性结构(含水量 65%~80%)分散关节载荷, 骺板软骨(生长板)通过增殖区、肥大区和钙化区的有序分化, 驱动长骨纵向生长。软骨细胞能调控骨髓间充质干细胞(BMSCs)的迁移。Guanrong Li 等将动态胺/共价双交联透明质酸(HA)水凝胶与载有糖苷元(KGN)的聚(乳酸-羟基乙酸共聚物)微球集成在一起促进干细胞的高效软骨生成。这种嵌入了 BMSCs 的水凝胶显著促进了兔模型中关节软骨的再生[51]。Yanchao Zhang 等生成 BMSCs3D 细胞团, 并在软骨分化培养基中培养, 建立软骨类器官。随后, 建立 IL-1 β 诱导的炎性软骨类器官, 说明了炎性软骨类器官降低了骨缺损修复的有效性和成功率[52]。

4. 应用前景

4.1. 疾病建模

骨类器官具有三维结构、细胞异质性及模拟骨微环境的能力, 可用于模拟多种骨疾病的发生发展过程, 还可以作为各种骨疾病的病理模型, 以模拟疾病的发病机制和细胞、组织病变过程和状态, 有助于了解骨疾病的发展和研发潜在的治疗靶点。目前, 骨缺损模型主要通过人工破坏动物骨骼来构建[53]。近期, 有学者通过患者来源的诱导多能干细胞重现了成骨不全病症的表现, 为发育不全疾病构建了有效模型[54]。该疾病模型成功复现成骨不全患者的胶原错误折叠及骨细胞树突紊乱, 为颌骨发育异常疾病(如腭裂)的机制研究提供新工具。Laura Dönges 等在软骨形成过程中添加炎症诱导成功构造了骨关节炎软骨类器官, 该模型概括了主要的 OA 病理特征, 例如软骨细胞肥大、软骨基质矿化、增强的分解代谢和机械硬化等, 并在此基础上研究了骨代谢相关机制[55]。Haixia Ma 等利用患者来源肿瘤细胞创建了在外体稳定概括亲本肿瘤许多方面的类器官, 忠实地概括了相应肿瘤的组织学特征、突变谱、基因表达谱和细胞多样性, 不仅可用于筛选化疗和靶向治疗药物, 还可用于预测免疫反应[56]。

4.2. 药物筛选与毒性评价

在临床应用前, 大多数药物都经过长期且完善的研究, 包括体内和体外测试。传统药物筛选方式主要是体外细胞实验和动物模型, 其中涉及药物开发周期延长和不确定的长期毒性[57]。由于细胞实验和动物模型无法完全模拟人体内复杂的生理状态和生物化学反应, 将常用细胞和动物实验的结果转化为临床通常面临着挑战, 对于用于临床试验的药物, 通常涉及到不可预测的不良反应, 患者的个体差异以及巨大的投入成本。类器官的出现降低了动物模型的应用, 且能更准确的模拟药物在人体内的反应过程, 为药物开发提供了便利并减少了成本的投入[58]。在骨和软骨组织来源的骨类器官中添加 A2A 腺苷受体激动剂, 得出了与细胞和动物实验一致的实验结果, 证明了骨骼类器官作为药物筛选平台的可行性和潜力[59]。针对骨类器官培养过程中归一性和量少的挑战, 可以构建高通量筛选平台, 通过检测评估骨/软骨类器官细胞增殖、分化、凋亡、对炎症的反应以及矿化等的关键指标, 快速评估药物的生物学效应, 为新药的开发提供便利。同时, 还可以利用基因组学、转录组学、蛋白质组学等技术深入探索药物机制, 揭示其对细胞信号通路和基因表达的影响, 从而进一步挖掘可能的治疗靶点。

4.3. 个性化医疗

疾病的表现方式存在个体差异,且针对罕见疾病的研究和治疗手段可能并不完善。在此背景下,基于患者来源的干细胞构建个性化骨类器官以准确模拟个体疾病状态是非常有意义的。个性化骨类器官模型的建立可以进行药物敏感性预测、临床手术方案的优化。通过深入研究药物作用于这些个性化类器官的可能机制,可以识别与特定药物反应相关的关键分子靶点和信号通路,从而实现精确的靶向治疗[60]。最近的一项研究构建了能准确反应细胞组学和肿瘤异质性的患者来源的骨肉瘤类器官,成功诱导了顺铂耐药,为研究化疗耐药创建了临床相关模型,并探索了耐药的相关机制和通路[61]。开发和验证骨病相关生物标志物以及个性化骨类器官检测可以预测患者对治疗的反应,有助于制定更精确的治疗计划。此外,通过动态观测个性化骨相关疾病类器官的发育发展过程以及其在炎症、力学刺激等不同条件下的变化,预测患者疾病的发展趋势,指导早期干预。

4.4. 发育生理学过程研究模型

骨类器官的构建和发育过程再现了生理性骨骼发育的所有过程,可以帮助研究人员更好探索骨相关疾病的分子机制、辅助治疗先天性骨疾病及针对大范围骨缺损疾病的修复开发再生性骨骼组织。Souta Motoike 等成功构建成颌骨样类器官,在体外复现了下颌骨的发育过程。此外,这些类器官在移植到含有骨缺损的颌骨中时促进骨再生[54]。骨类器官可以完美重现人体中发生的软骨内和膜内成骨过程。研究人员通过探索整个发育过程中成骨相关基因和蛋白的表达,可以深入了解骨骼发育和生长所涉及的分子机制,为发育遗传疾病的治疗、骨相关癌症的靶向治疗以及骨缺损的有效和快速恢复提供研究基础。

5. 挑战与未来展望

从基础研究到临床应用的转化,骨类器官具有广阔的前景。细胞特异性分化的调控和相关 ECM 样材料的发掘将继续是未来研究的热点。然而,其发展仍面临着三大核心挑战,未来研究需针对性突破。

5.1. 功能血管化的形成

现有共培养或生长因子缓释策略仅在类器官表层形成浅层血管网($<200\ \mu\text{m}$),无法滋养核心区域($>500\ \mu\text{m}$)。未来的技术路径可着手于利用 3D 生物打印技术,预先制造内置的、具有层级结构的仿生血管通道,引入“类器官组装”策略,以及将预先形成的血管类器官与骨类器官在特定模式下共培养,促使二者在结构和功能上整合。

5.2. 标准化与可重复性

当前骨类器官在细胞来源、培养流程和质量评价上缺乏统一标准。未来可以通过建立基于人工智能的图像识别系统,对类器官的形态、尺寸进行自动分级和质控。也可以推动多组学(如单细胞 RNA 测序、空间转录组)为核心表征手段,从分子层面定义类器官的成熟度和相似性。同时,开发“试剂盒化”的培养组件,将关键材料和细胞标准化,降低操作门槛和批间差异。

5.3. 力学性能与长期稳定性

体外构建的骨类器官其刚度和硬度远未达到天然骨骼承重需求,且矿化过程漫长。因此,开发集成力学传感与反馈调控的“智能生物反应器”,能够实时监测类器官的刚度变化并自动调整施加的机械刺激(如循环压应力),以加速其成熟,也可通过基因编辑或小分子药物干预,主动激活成骨细胞的高效矿化程序,缩短矿化周期。为了进一步提升力学性能,完成临床转化,利用纳米材料(如碳纳米管、石墨烯)复

合支架，在维持多孔结构的同时显著提升材料的本征力学强度。

骨类器官的出现对基础医学研究以及临床用药、疾病的个性化治疗方面的指导具有重要意义。目前骨类器官的研究仍处于初步探索阶段，持续的研究将为未来骨类器官的构建提供更多的视角和进展。

参考文献

- [1] Bloise, N., Waldorff, E., Montagna, G., Bruni, G., Fassina, L., Fang, S., *et al.* (2022) Early Osteogenic Marker Expression in hMSCs Cultured onto Acid Etching-Derived Micro- and Nanotopography 3D-Printed Titanium Surfaces. *International Journal of Molecular Sciences*, **23**, Article No. 7070. <https://doi.org/10.3390/ijms23137070>
- [2] Sharma, S. and Basu, B. (2022) Biomaterials Assisted Reconstructive Urology: The Pursuit of an Implantable Bioengineered Neo-Urinary Bladder. *Biomaterials*, **281**, Article No. 121331. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2021.121331>
- [3] Sato, T., Vries, R.G., Snippert, H.J., van de Wetering, M., Barker, N., Stange, D.E., *et al.* (2009) Single Lgr5 Stem Cells Build Crypt-Villus Structures *in Vitro* without a Mesenchymal Niche. *Nature*, **459**, 262-265. <https://doi.org/10.1038/nature07935>
- [4] Cai, H., Ao, Z., Tian, C., Wu, Z., Kaurich, C., Chen, Z., *et al.* (2023) Engineering Human Spinal Microphysiological Systems to Model Opioid-Induced Tolerance. *Bioactive Materials*, **22**, 482-490. <https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2022.10.007>
- [5] Pittenger, M.F., Mackay, A.M., Beck, S.C., Jaiswal, R.K., Douglas, R., Mosca, J.D., *et al.* (1999) Multilineage Potential of Adult Human Mesenchymal Stem Cells. *Science*, **284**, 143-147. <https://doi.org/10.1126/science.284.5411.143>
- [6] Gu, J., Wang, B., Wang, T., Zhang, N., Liu, H., Gui, J., *et al.* (2022) Effects of Cartilage Progenitor Cells, Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells and Chondrocytes on Cartilage Repair as Seed Cells: An *in Vitro* Study. *Drug Design, Development and Therapy*, **16**, 1217-1230. <https://doi.org/10.2147/dddt.s356936>
- [7] Bai, L., Zhou, D., Li, G., Liu, J., Chen, X. and Su, J. (2024) Engineering Bone/Cartilage Organoids: Strategy, Progress, and Application. *Bone Research*, **12**, Article No. 66. <https://doi.org/10.1038/s41413-024-00376-y>
- [8] Padhi, A. and Nain, A.S. (2019) ECM in Differentiation: A Review of Matrix Structure, Composition and Mechanical Properties. *Annals of Biomedical Engineering*, **48**, 1071-1089. <https://doi.org/10.1007/s10439-019-02337-7>
- [9] Hughes, C.S., Postovit, L.M. and Lajoie, G.A. (2010) Matrigel: A Complex Protein Mixture Required for Optimal Growth of Cell Culture. *Proteomics*, **10**, 1886-1890. <https://doi.org/10.1002/pmic.200900758>
- [10] Ho, S.S., Keown, A.T., Addison, B. and Leach, J.K. (2017) Cell Migration and Bone Formation from Mesenchymal Stem Cell Spheroids in Alginate Hydrogels Are Regulated by Adhesive Ligand Density. *Biomacromolecules*, **18**, 4331-4340. <https://doi.org/10.1021/acs.biomac.7b01366>
- [11] Ho, S.S., Murphy, K.C., Binder, B.Y.K., Vissers, C.B. and Leach, J.K. (2016) Increased Survival and Function of Mesenchymal Stem Cell Spheroids Entrapped in Instructive Alginate Hydrogels. *Stem Cells Translational Medicine*, **5**, 773-781. <https://doi.org/10.5966/sctm.2015-0211>
- [12] He, J., Genetos, D.C. and Leach, J.K. (2010) Osteogenesis and Trophic Factor Secretion Are Influenced by the Composition of Hydroxyapatite/Poly(Lactide-Co-Glycolide) Composite Scaffolds. *Tissue Engineering Part A*, **16**, 127-137. <https://doi.org/10.1089/ten.tea.2009.0255>
- [13] Gai, T., Zhang, H., Hu, Y., Li, R., Wang, J., Chen, X., *et al.* (2025) Sequential Construction of Vascularized and Mineralized Bone Organoids Using Engineered ECM-DNA-CPO-Based Bionic Matrix for Efficient Bone Regeneration. *Bioactive Materials*, **49**, 362-377. <https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2025.02.033>
- [14] Rustad, K.C., Wong, V.W., Sorkin, M., Glotzbach, J.P., Major, M.R., Rajadas, J., *et al.* (2012) Enhancement of Mesenchymal Stem Cell Angiogenic Capacity and Stemness by a Biomimetic Hydrogel Scaffold. *Biomaterials*, **33**, 80-90. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2011.09.041>
- [15] Zhu, M., Zhang, H., Zhou, Q., Sheng, S., Gao, Q., Geng, Z., *et al.* (2025) Dynamic GelMA/DNA Dual-Network Hydrogels Promote Woven Bone Organoid Formation and Enhance Bone Regeneration. *Advanced Materials*, **37**, Article ID: 2501254. <https://doi.org/10.1002/adma.202501254>
- [16] Ding, H., Chen, D., Tan, X., Xu, X., Li, G., Xu, L., *et al.* (2025) Enhanced Bone Repair Using Callus Organoids Derived from Urine-Derived Stem Cells with Silk Fibroin. *Advanced Healthcare Materials*, **14**, Article ID: 2501852. <https://doi.org/10.1002/adhm.202501852>
- [17] Huang, H. and Vogel, H.J. (2012) Structural Basis for the Activation of Platelet Integrin $\alpha\text{IIb}\beta 3$ by Calcium- and Integrin-Binding Protein. *Journal of the American Chemical Society*, **134**, 3864-3872. <https://doi.org/10.1021/ja2111306>
- [18] Komori, T. (2006) Regulation of Osteoblast Differentiation by Transcription Factors. *Journal of Cellular Biochemistry*, **99**, 1233-1239. <https://doi.org/10.1002/jcb.20958>

- [19] Capulli, M., Paone, R. and Rucci, N. (2014) Osteoblast and Osteocyte: Games without Frontiers. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, **561**, 3-12. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2014.05.003>
- [20] Zhou, H., Choong, P., McCarthy, R., Chou, S.T., Martin, T.J. and DR. Ng, K.W. (1994) *In Situ* Hybridization to Show Sequential Expression of Osteoblast Gene Markers during Bone Formation *in Vivo*. *Journal of Bone and Mineral Research*, **9**, 1489-1499. <https://doi.org/10.1002/jbmr.5650090922>
- [21] Leeuwen, J.P.T.M.v., Driel, M.v., van den Bemd, G.J.C.M. and Pols, H.A.P. (2001) Vitamin D Control of Osteoblast Function and Bone Extracellular Matrix Mineralization. *Critical Reviews in Eukaryotic Gene Expression*, **11**, 199-226. <https://doi.org/10.1615/critreveukargeneexpr.v11.i1.3.100>
- [22] Zhu, Y., Wang, Y., Jia, Y., Xu, J. and Chai, Y. (2019) Catalpol Promotes the Osteogenic Differentiation of Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells via the Wnt/ β -Catenin Pathway. *Stem Cell Research & Therapy*, **10**, Article No. 37. <https://doi.org/10.1186/s13287-019-1143-y>
- [23] Ryu, N., Lee, S. and Park, H. (2019) Spheroid Culture System Methods and Applications for Mesenchymal Stem Cells. *Cells*, **8**, Article No. 1620. <https://doi.org/10.3390/cells8121620>
- [24] Metzger, W., Sossong, D., Bächle, A., Pütz, N., Wennemuth, G., Pohlemann, T., *et al.* (2011) The Liquid Overlay Technique Is the Key to Formation of Co-Culture Spheroids Consisting of Primary Osteoblasts, Fibroblasts and Endothelial Cells. *Cytotherapy*, **13**, 1000-1012. <https://doi.org/10.3109/14653249.2011.583233>
- [25] Anil-Inevi, M., Yaman, S., Yildiz, A.A., Mese, G., Yalcin-Ozuysal, O., Tekin, H.C., *et al.* (2018) Biofabrication of *in Situ* Self Assembled 3D Cell Cultures in a Weightlessness Environment Generated Using Magnetic Levitation. *Scientific Reports*, **8**, Article No. 7239. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-25718-9>
- [26] Sytkowski, A.J. and Davis, K.L. (2001) Erythroid Cell Growth and Differentiation *in Vitro* in the Simulated Microgravity Environment of the NASA Rotating Wall Vessel Bioreactor. *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Animal*, **37**, Article No. 79. [https://doi.org/10.1290/1071-2690\(2001\)037<0079:ecgadi>2.0.co;2](https://doi.org/10.1290/1071-2690(2001)037<0079:ecgadi>2.0.co;2)
- [27] Costa, E.C., de Melo-Diogo, D., Moreira, A.F., Carvalho, M.P. and Correia, I.J. (2017) Spheroids Formation on Non-adhesive Surfaces by Liquid Overlay Technique: Considerations and Practical Approaches. *Biotechnology Journal*, **13**, Article ID: 1700417. <https://doi.org/10.1002/biot.201700417>
- [28] Rouwkema, J., Koopman, B.F.J.M., Blitterswijk, C.A.V., Dhert, W.J.A. and Malda, J. (2009) Supply of Nutrients to Cells in Engineered Tissues. *Biotechnology and Genetic Engineering Reviews*, **26**, 163-178. <https://doi.org/10.5661/bger-26-163>
- [29] Li, Q., Liu, Q., Cai, H. and Tan, W. (2006) A Comparative Gene-Expression Analysis of CD34+ Hematopoietic Stem and Progenitor Cells Grown in Static and Stirred Culture Systems. *Cellular and Molecular Biology Letters*, **11**, 475-487. <https://doi.org/10.2478/s11658-006-0051-1>
- [30] Qian, X., Nguyen, H.N., Song, M.M., Hadiono, C., Ogden, S.C., Hammack, C., *et al.* (2016) Brain-Region-Specific Organoids Using Mini-Bioreactors for Modeling ZIKV Exposure. *Cell*, **165**, 1238-1254. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2016.04.032>
- [31] Takahashi, J., Mizutani, T., Sugihara, H.Y., Nagata, S., Kato, S., Hiraguri, Y., *et al.* (2022) Suspension Culture in a Rotating Bioreactor for Efficient Generation of Human Intestinal Organoids. *Cell Reports Methods*, **2**, Article ID: 100337. <https://doi.org/10.1016/j.crmeth.2022.100337>
- [32] Tang, X., Wu, S., Wang, D., Chu, C., Hong, Y., Tao, M., *et al.* (2022) Human Organoids in Basic Research and Clinical Applications. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, **7**, Article No. 168. <https://doi.org/10.1038/s41392-022-01024-9>
- [33] Wang, Y., Wang, H., Deng, P., Chen, W., Guo, Y., Tao, T., *et al.* (2018) *In Situ* Differentiation and Generation of Functional Liver Organoids from Human iPSCs in a 3D Perfusable Chip System. *Lab on a Chip*, **18**, 3606-3616. <https://doi.org/10.1039/c8lc00869h>
- [34] Homan, K.A., Gupta, N., Kroll, K.T., Kolesky, D.B., Skylar-Scott, M., Miyoshi, T., *et al.* (2019) Flow-Enhanced Vascularization and Maturation of Kidney Organoids *in Vitro*. *Nature Methods*, **16**, 255-262. <https://doi.org/10.1038/s41592-019-0325-y>
- [35] Wang, Y., Wang, L., Guo, Y., Zhu, Y. and Qin, J. (2018) Engineering Stem Cell-Derived 3D Brain Organoids in a Perfusable Organ-on-a-Chip System. *RSC Advances*, **8**, 1677-1685. <https://doi.org/10.1039/c7ra11714k>
- [36] Wang, Y., Wang, L., Zhu, Y. and Qin, J. (2018) Human Brain Organoid-on-a-Chip to Model Prenatal Nicotine Exposure. *Lab on a Chip*, **18**, 851-860. <https://doi.org/10.1039/c7lc01084b>
- [37] Zhao, X., Liu, S., Yildirimer, L., Zhao, H., Ding, R., Wang, H., *et al.* (2016) Injectable Stem Cell-Laden Photocrosslinkable Microspheres Fabricated Using Microfluidics for Rapid Generation of Osteogenic Tissue Constructs. *Advanced Functional Materials*, **26**, 2809-2819. <https://doi.org/10.1002/adfm.201504943>
- [38] Cai, H., Ao, Z., Wu, Z., Song, S., Mackie, K. and Guo, F. (2021) Intelligent Acoustofluidics Enabled Mini-Bioreactors for Human Brain Organoids. *Lab on a Chip*, **21**, 2194-2205. <https://doi.org/10.1039/d1lc00145k>

- [39] Whitesides, G.M. (2006) The Origins and the Future of Microfluidics. *Nature*, **442**, 368-373. <https://doi.org/10.1038/nature05058>
- [40] Zhang, Y.S., Aleman, J., Shin, S.R., Kilic, T., Kim, D., Mousavi Shaegh, S.A., *et al.* (2017) Multisensor-Integrated Organs-on-Chips Platform for Automated and Continual *in Situ* Monitoring of Organoid Behaviors. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **114**, E2293-E2302. <https://doi.org/10.1073/pnas.1612906114>
- [41] Gandhimathi, C., Quek, Y.J., Ezhilarasu, H., Ramakrishna, S., Bay, B. and Srinivasan, D.K. (2019) Osteogenic Differentiation of Mesenchymal Stem Cells with Silica-Coated Gold Nanoparticles for Bone Tissue Engineering. *International Journal of Molecular Sciences*, **20**, Article No. 5135. <https://doi.org/10.3390/ijms20205135>
- [42] Shen, H., Zhu, J., Huang, C., Xiang, D. and Liu, W. (2023) Effect of Interbody Implants on the Biomechanical Behavior of Lateral Lumbar Interbody Fusion: A Finite Element Study. *Journal of Functional Biomaterials*, **14**, Article No. 113. <https://doi.org/10.3390/jfb14020113>
- [43] Iordachescu, A., Amin, H.D., Rankin, S.M., Williams, R.L., Yapp, C., Bannerman, A., *et al.* (2017) An *in Vitro* Model for the Development of Mature Bone Containing an Osteocyte Network. *Advanced Biosystems*, **2**, Article ID: 1700156. <https://doi.org/10.1002/adbi.201700156>
- [44] Akiva, A., Melke, J., Ansari, S., Liv, N., van der Meijden, R., van Erp, M., *et al.* (2021) An Organoid for Woven Bone. *Advanced Functional Materials*, **31**, Article ID: 2010524. <https://doi.org/10.1002/adfm.202010524>
- [45] Xie, C., Liang, R., Ye, J., Peng, Z., Sun, H., Zhu, Q., *et al.* (2022) High-Efficient Engineering of Osteo-Callus Organoids for Rapid Bone Regeneration within One Month. *Biomaterials*, **288**, Article ID: 121741. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2022.121741>
- [46] Li, A., Sasaki, J., Abe, G.L., Katata, C., Sakai, H. and Imazato, S. (2023) Vascularization of a Bone Organoid Using Dental Pulp Stem Cells. *Stem Cells International*, **2023**, Article ID: 5367887. <https://doi.org/10.1155/2023/5367887>
- [47] Park, Y., Cheong, E., Kwak, J., Carpenter, R., Shim, J. and Lee, J. (2021) Trabecular Bone Organoid Model for Studying the Regulation of Localized Bone Remodeling. *Science Advances*, **7**, eabd6495. <https://doi.org/10.1126/sciadv.abd6495>
- [48] Qin, H., Wei, Y., Han, J., Jiang, X., Yang, X., Wu, Y., *et al.* (2022) 3D Printed Bioceramic Scaffolds: Adjusting Pore Dimension Is Beneficial for Mandibular Bone Defects Repair. *Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine*, **16**, 409-421. <https://doi.org/10.1002/term.3287>
- [49] Frenz-Wiessner, S., Fairley, S.D., Buser, M., Goek, I., Salewskij, K., Jonsson, G., *et al.* (2024) Generation of Complex Bone Marrow Organoids from Human Induced Pluripotent Stem Cells. *Nature Methods*, **21**, 868-881. <https://doi.org/10.1038/s41592-024-02172-2>
- [50] Olijnik, A., Rodriguez-Romera, A., Wong, Z.C., Shen, Y., Reyat, J.S., Jooss, N.J., *et al.* (2024) Generating Human Bone Marrow Organoids for Disease Modeling and Drug Discovery. *Nature Protocols*, **19**, 2117-2146. <https://doi.org/10.1038/s41596-024-00971-7>
- [51] Li, G., Ni, R., Shi, Z., Mao, H., Luo, Y., Cao, X., *et al.* (2025) Enhancing BMSC Chondrogenesis with a Dynamic Viscoelastic Hyaluronan Hydrogel Loaded with Kartogenin for Cartilage Repair. *International Journal of Biological Macromolecules*, **312**, Article ID: 144042. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2025.144042>
- [52] Zhang, Y., Fang, Q., Peng, Y., Liu, H., Tang, J., Ma, R., *et al.* (2025) Establishment and Characterization of an Inflammatory Cartilaginous Organoids Model for Organoid Transplantation Study. *Journal of Orthopaedic Translation*, **52**, 376-386. <https://doi.org/10.1016/j.jot.2025.05.002>
- [53] Liu, M. and Lv, Y. (2018) Reconstructing Bone with Natural Bone Graft: A Review of *in Vivo* Studies in Bone Defect Animal Model. *Nanomaterials*, **8**, Article No. 999. <https://doi.org/10.3390/nano8120999>
- [54] Motoike, S., Inada, Y., Toguchida, J., Kajiya, M. and Ikeya, M. (2025) Jawbone-Like Organoids Generated from Human Pluripotent Stem Cells. *Nature Biomedical Engineering*, **9**, 1816-1834. <https://doi.org/10.1038/s41551-025-01419-3>
- [55] Dönges, L., Damle, A., Mainardi, A., Bock, T., Schönenberger, M., Martin, I., *et al.* (2024) Engineered Human Osteoarthritic Cartilage Organoids. *Biomaterials*, **308**, Article ID: 122549. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2024.122549>
- [56] Ma, H., Li, X., Li, J., Bu, J., Li, X., Zhang, J., *et al.* (2026) Generation of Patient-Derived Sarcoma Organoids for Personalized Drug Screening and Precision Cancer Immunotherapy. *Biomaterials*, **324**, Article ID: 123546. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2025.123546>
- [57] Kubo, N., Araki, K., Kuwano, H. and Shirabe, K. (2016) Cancer-Associated Fibroblasts in Hepatocellular Carcinoma. *World Journal of Gastroenterology*, **22**, 6841-6850. <https://doi.org/10.3748/wjg.v22.i30.6841>
- [58] Curvello, R., Kerr, G., Micati, D.J., Chan, W.H., Raghuvanshi, V.S., Rosenbluh, J., *et al.* (2020) Engineered Plant-Based Nanocellulose Hydrogel for Small Intestinal Organoid Growth. *Advanced Science*, **8**, Article ID: 2002135. <https://doi.org/10.1002/advs.202002135>
- [59] Abraham, D.M., Herman, C., Witek, L., Cronstein, B.N., Flores, R.L. and Coelho, P.G. (2021) Self-Assembling Human Skeletal Organoids for Disease Modeling and Drug Testing. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, **110**, 871-884. <https://doi.org/10.1002/jbm.b.34968>

-
- [60] Ren, X., Chen, W., Yang, Q., Li, X. and Xu, L. (2022) Patient-Derived Cancer Organoids for Drug Screening: Basic Technology and Clinical Application. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, **37**, 1446-1454. <https://doi.org/10.1111/jgh.15930>
- [61] Xu, R., Zhu, S., Zhang, W., Xu, H., Tu, C., Wang, H., *et al.* (2025) A Dual Approach with Organoid and CRISPR Screening Reveals ERCC6 as a Determinant of Cisplatin Resistance in Osteosarcoma. *Advanced Science*, **12**, Article ID: 2500632. <https://doi.org/10.1002/adv.202500632>