

# 软骨再生工程类器官的研究及应用前景

谷兆迪<sup>1</sup>, 马龙飞<sup>2</sup>

<sup>1</sup>济宁医学院临床医学院附属医院, 山东 济宁

<sup>2</sup>济宁医学院附属医院关节与运动医学科, 山东 济宁

收稿日期: 2026年3月8日; 录用日期: 2026年4月1日; 发布日期: 2026年4月13日

## 摘要

骨关节炎已成为威胁人类健康的重要疾病。开发更有效的软骨再生治疗手段, 是当前临床实践面临的重要挑战。二维细胞培养、动物实验等传统研究方法存在局限性, 近年来发展起来的类器官技术因此受到广泛关注。作为干细胞来源的自组织三维细胞聚集体, 类器官能够在体外更逼真地模拟软骨组织的复杂结构与生物学功能。近年来, 依托组织工程技术、间充质干细胞诱导分化技术及多能干细胞分化技术构建的软骨类器官体系逐步建立, 为软骨缺损修复带来了新的希望。本文综述了软骨类器官模型的构建策略与最新研究进展, 阐述其在软骨再生医学领域的应用价值, 并探讨软骨类器官培养存在的局限性, 同时展望未来发展方向, 以期通过工程化策略为多阶段干细胞介导的软骨再生研究提供指导。单纯的体外细胞培养、动物模型与人体真实生理状态之间的差异是客观存在的。最新发展的类器官技术能够模拟人体软骨的微观生理特征, 在一定程度上为软骨疾病研究提供了理想模型, 也为基础研究向软骨再生临床转化搭建了桥梁。本文归纳总结了软骨类器官在关节软骨修复领域的应用场景, 最后评述了当前软骨类器官研究存在的局限性, 并展望了工程化软骨类器官的未来发展方向, 包括将类器官技术与基因编辑技术、3D打印技术、微流控芯片技术进行深度融合, 以期推动软骨类器官的进一步发展与应用。

## 关键词

类器官, 组织工程, 软骨再生, 基因工程, 再生医学

# Research and Application Prospects of Organoids for Cartilage Regeneration Engineering

Zhaodi Gu<sup>1</sup>, Longfei Ma<sup>2</sup>

<sup>1</sup>School of Clinical Medicine, Jining Medical University Affiliated Hospital, Jining Shandong

<sup>2</sup>Department of Joint and Sports Medicine, Affiliated Hospital of Jining Medical University, Jining Shandong

Received: March 8, 2026; accepted: April 1, 2026; published: April 13, 2026

## Abstract

Osteoarthritis has emerged as a major public health concern affecting human well-being. Developing more effective therapeutic approaches for cartilage regeneration remains a key challenge in clinical practice. Due to the limitations of conventional research models such as 2D cell cultures and animal experiments, organoid technology, which has advanced rapidly in recent years, has attracted significant attention. As self-organizing 3D cell clusters derived from stem cells, organoids can more accurately simulate the complex structure and biological functions of cartilage tissue *in vitro*. In recent years, cartilage organoids established through tissue engineering, induced mesenchymal stem cell differentiation, and pluripotent stem cell differentiation technologies have gradually been developed, offering new hope for the repair of cartilage defects. This review summarizes the construction strategies and latest progress of cartilage organoid models, their applications in the field of cartilage regenerative medicine, discusses the limitations in cartilage organoid culture, and outlines future development directions for guiding stem cell-based multi-stage development using engineering strategies. Objective differences exist between simple *in vitro* cell culture, animal models, and the real physiological state of the human body. The newly developed organoid technology can simulate the microphysiological characteristics of human cartilage, providing an ideal model for the study of cartilage diseases to a certain extent, and also building a bridge for the clinical translation of basic research into cartilage regeneration. This paper summarizes the application scenarios of cartilage organoids in the field of articular cartilage repair, reviews the current limitations in cartilage organoid research, and prospects the future development directions of engineered cartilage organoids, including the in-depth integration of organoid technology with gene editing, 3D printing, and microfluidic chip technologies, so as to promote the further development and application of cartilage organoids.

## Keywords

Organoids, Tissue Engineering, Cartilage Regeneration, Genetic Engineering, Regenerative Medicine

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

作为骨骼肌肉系统的核心组件, 软骨在人体运动、维持机体结构稳定以及执行特定生理功能等方面发挥着关键作用。它不仅为关节提供物理缓冲, 减少摩擦和保障肢体灵活运动, 还参与维持骨骼的正常形态与力学性能。然而, 伴随人口老龄化的加剧以及创伤事件的增多, 各类软骨损伤及退行性疾病, (如骨关节炎、创伤性软骨缺损等), 患病率正以惊人的速度逐年递增。这些疾病不仅给患者带来难以忍受的疼痛, 极大地降低了他们的生活质量, 还对全球医疗资源造成了沉重的负担[1]-[4]。

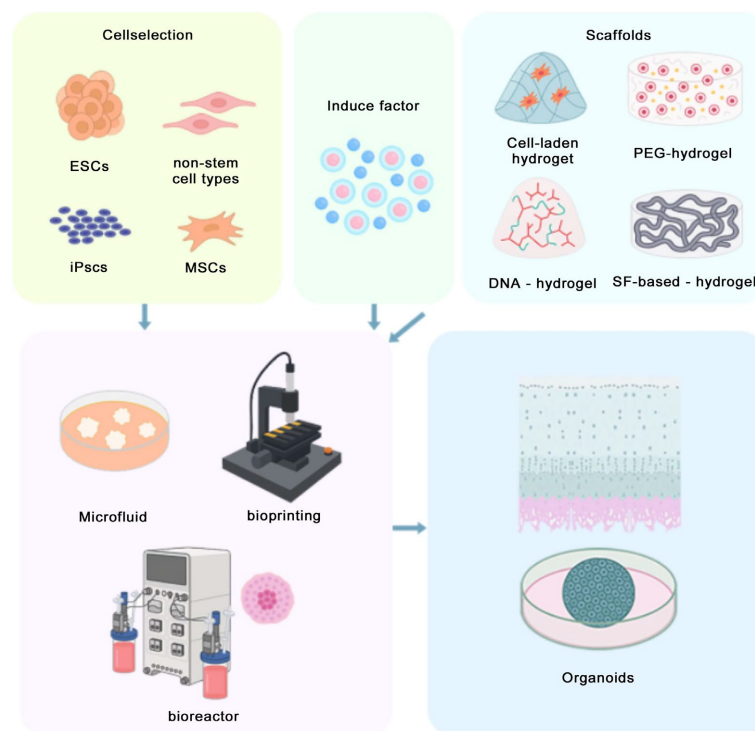
目前, 这些疾病的发病机制极为复杂, 受到多种细胞和分子机制的协同调控, 其中诸多关键环节仍未被完全研究透彻, 这成为了开发高效治疗手段的巨大阻碍。在临床治疗方面, 尽管传统的软骨修复方法, 如微骨折术、软骨细胞移植以及关节置换术等在一定程度上缓解了患者的症状, 但这些方法都存在明显的局限性。例如, 微骨折术虽然能诱导纤维软骨形成, 但修复后的软骨质量较差, 耐久性不足; 软骨细胞移植面临着细胞来源有限、供区损伤以及免疫排斥等问题; 关节置换术则适用于晚期严重病变患

者, 存在手术创伤大、假体使用寿命有限以及术后并发症等风险[5] [6]。

传统的研究模型, 如二维细胞培养和动物实验, 在探究软骨疾病机制和评估治疗效果方面也存在诸多不足。二维细胞培养系统虽然操作简便、成本较低, 但由于其培养环境过于简单, 缺乏细胞间的复杂相互作用和体内类似的三维微环境, 难以真实反映软骨细胞在体内的生物学行为。动物实验虽然能够在一定程度上模拟体内环境, 但由于物种间的差异, 实验结果往往难以直接转化应用于人类临床实践, 同时还面临着伦理限制、实验周期长以及成本高昂等问题[7]-[9]。三维细胞培养体系中, Spheroids (细胞球)、Microtissues (微组织)与 Organoids (类器官)存在明确层级差异: 细胞球是最基础的三维细胞聚集体, 仅体现细胞抱团生长, 无结构分化与功能特异性; 微组织虽具备初步组织化结构, 但功能单一, 缺乏自组织能力[5]-[9]。

在此困境下, 类器官技术作为一种新兴的研究手段, 为软骨再生领域带来了新的曙光。类器官是具备自组织特性的高级三维模型, 可形成类似天然软骨的区带分层结构, 且能分泌特异性功能基质, 再现软骨核心生理功能。软骨类器官作为一种新兴的研究模型, 是利用人类干细胞或功能细胞, 结合生物活性支架材料, 通过精准的定向诱导技术, 在体外三维培养构建而成的类软骨结构(见图 1)。其最大的优势在于能够高度模拟体内软骨组织的生理和病理特征, 涵盖特定的功能、复杂的空间结构、多样的细胞组成以及细胞间复杂的相互作用关系, 为深入探究软骨发育机制、精准调控软骨再生过程以及高效筛选治疗药物提供了前所未有的有力工具。近年来, 软骨类器官工程在构建策略、应用研究等方面均取得了显著进展。科研人员在细胞来源、支架材料、诱导因子筛选以及构建技术优化等方面不断探索创新, 推动软骨类器官的构建日益成熟, 在软骨再生医学领域展现出巨大的应用潜力[7] [10]-[14]。

本文将围绕软骨类器官在软骨再生中的应用展开深入探讨, 详细阐述其构建策略、研究进展、面临的挑战以及未来发展方向, 旨在为推动软骨再生领域的研究和临床应用提供全面的参考和理论依据。



**Figure 1.** Construction components of organoids

**图 1.** 类器官的构建成分

## 2. 生命科学中的模型系统

临床前模型在研究软骨疾病的生理机制、病理机制、测试新疗法的安全性和有效性以及预测其临床潜力方面发挥着至关重要的作用。类器官模型未出现之前, 在生命科学领域, 多种传统模型被广泛应用于软骨领域的研究[15][16]。生命科学中的模型系统主要包括以细胞培养为基础的体外模型(*In vitro models*): 以分离的软骨外植体或器官培养为基础的离体模型(*Ex vivo models*)和以各种动物软骨、关节模型为基础的体内模型(*In vivo models*) [15][17]-[19]。这些传统的细胞、组织和动物模型为研究软骨相关生物机制和疾病提供了重要支撑并在以往的研究中做出了巨大贡献, 也各有其独特的优势, 但都存在一定局限性。

体内模型是以细胞培养为基础的系统, 为研究软骨细胞的生物学行为提供可控的环境对原代细胞和永生化细胞进行培养, 主要包括单层细胞培养(monolayer cell culture)和球状体[15][20]。单层细胞培养又称为 2D cell culture, 其主要优点为时间和经济成本低、易操作和可基因编辑等, 但也有着生理代表性差和与器官构造差异大等缺点[15][16]。为了克服 2D 细胞模型的局限性, 研究人员探索出了 spheroids、pellets 和 microtissues 等 3D 培养系统, 最具代表性的为 spheroid。3D 模型同样具有时间和经济成本低、易操作和可基因编辑等优点, 同时还具有比 2D cell culture 更好的生理代表性, 推动了软骨发育及疾病体外模型构建领域的发展[15][17][21]。但目前的技术在复制天然软骨的力学和生物复杂性以及实现高细胞数量方面仍面临挑战, 其生理代表性仍不如离体模型。

离体模型主要是组织块培养和类器官(organoïd)培养, 其提供的生理环境比体外模型更接近天然软骨环境供软骨细胞生长。但软骨组织不易获取、体外维持细胞表型困难、个体差异大等劣势都不利于离体模型的推广和利用。为寻求更具代表性的模型往往使用体内模型[22][23]。

体内模型是活体动物的软骨和关节模型, 软骨研究中最常用的体内模型就是小鼠和兔等动物模型, 已广泛应用于软骨疾病机制和治疗方法的疗效评价等领域中并产生了重要价值。然而, 由于人和动物之间的生理学和解剖学差异, 这些模型的转化潜力有限, 这可能会影响结果的有效性。其次, 动物模型经济和时间成本高、伦理要求高等问题都限制了其大范围应用和推广[24]-[27]。

针对传统模型系统与人软骨细胞及环境差异大、经济成本高、周期长、生理代表性差、不易操控和转化潜力有限等问题, 研究者们提出并制造出了软骨类器官这一新型模型。通过人类干细胞、功能细胞等细胞和支架(Scaffolds)构造出复杂的、更接近体内器官的三维软骨模型, 这些模型就是类器官[20][28]。

## 3. 软骨类器官的制造

软骨类器官是以类骨基质生物活性材料作为支架, 连同定向诱导技术在体外 3D 培养各类干细胞(如胚胎干细胞、骨骼干细胞等)或软骨相关功能细胞(成骨细胞、破骨细胞等)。将其培育成为可以模拟软骨生理及病理特征、具备软骨的一些特定功能、空间特征、组织的结构和细胞复杂性的类软骨器官。可用于软骨发育机制、调控机制、再生修复、药物筛选等方面的研究, 为再生医学和组织工程的发展提供了新的途径。软骨类器官的构建包括选择合适的细胞、支架、诱导因子和构建技术等, 从而完成对软骨复杂结构和功能的复制[7]-[9]。

### 3.1. 干细胞来源

任何类器官起始细胞的选择直接影响最终类器官的结构、功能、变异性和异质性[29]。起始细胞的培养和增殖是构建类器官的第一步, 要求其具备较高的增殖能力和多能分化潜能, 使其能够在合适的条件下分化为软骨组织相关细胞。[30]参与软骨组织形成和修复的细胞主要为分离和培养的干细胞, 包括间充质干细胞 Mesenchymal stem cells (MSCs)、诱导多能干细胞 Pluripotent stem cells (PSCs)、胚胎干细胞 embryonic stem cell (ESC)和其他干细胞, 以及软骨细胞等 non-stem cell types [31]-[33]。

### 3.1.1. MSC Stem Cells

间充质干细胞(Mesenchymal stem cells, MSCs)是一种主要来源于骨髓、脐带、胎盘和脂肪组织的具有自我更新和多向分化潜能的多能干细胞[34]。在特定的培养条件下, MSCs 可分化为各种骨相关细胞, 包括软骨细胞、骨细胞、脂肪细胞和肌肉细胞等。并且已有研究表明 MSCs 即使经过连续传代和冷冻保存, 仍然具有分化潜能。这种分化特性和稳定性使 MSCs 成为构建软骨类器官的理想种子细胞, 并且已有研究成功通过 MSCs 构建出了软骨类器官[9] [12] [31] [35]。通过使用特定的细胞外基质分子和生长因子在体外培养 MSCs, 可以产生软骨类器官[36]。已有多个研究报道了通过 MSCs 成功构建了软骨类器官, Bian 等通过 MSCs 在体外诱导软骨样组织形成等[35]; Xing 等利用人脐带 MSCs 构建出了软骨类器官[12]; Shen 等利用 DNA-silk protein hydrogel microspheres 诱导 BMSCs 成软骨分化, 成功构建了软骨类器官[37]。可快速扩增、可及性和可分化为各种间充质来源的组织细胞是利用 MSCs 培育软骨类器官的优势[38] [39]。尽管 MSCs 在以细胞为基础的软骨类器官组织工程和再生医学中的应用前景大好, 但仍面临不同来源 MSCs 特性的差异、创造与天然软骨相似的类器官较困难等挑战[40]。针对以上问题, 研究人员尝试其他细胞解决, 虽未有确切的证据证明 iPSC 在软骨类器官构造领域优于 MSCs, 但现有的研究表面 iPSC 的长期成软骨潜能优于 MSCs, 并且在解决表型随传代丧失、细胞数量和纤维软骨形成等问题上优于 MSCs [41]。

### 3.1.2. iPSC Stem Cells

诱导多能干细胞(Induced pluripotent stem cells, iPSCs)是指通过引入特异性转录因子而被重编程为多能状态的终末分化体细胞, 其具有强大的增殖、再生能力和分化潜能, 可分化为包括软骨组织在内的人类不同器官和组织细胞类型[15] [42]。如今, iPSCs 在软骨类器官的构建中起着至关重要的作用, 已成为研究软骨类器官形成的通用工具。首先, iPSCs 可以从自体成熟体细胞中诱导形成, 避免了同种异体移植的免疫排斥反应。其次, iPSCs 可以在保持同一基因型的情况下分化为各种细胞类型, 构建出一个复杂的系统, 进而可针对不同患者构建出患者特定的软骨疾病模型, 从而促进药物的测试和研发。正是 iPSCs 的这一特性使其成为遗传精确的工具细胞。iPSCs 在生长因子  $\beta$  (TGF- $\beta$ ) TGF- $\beta$  和骨形态发生蛋白(BMP) BMP 的驱动下已成功分化为软骨细胞系, 并已广泛应用于软骨组织工程领域[31] [43] [44]; Li 等在体外成功诱导 iPSCs 分化为软骨类器官[31]; Farshid 等通过利用小鼠诱导多能干细胞(iPSCs)开发出了一种软骨类器官[44], 这些研究均表明 iPSCs 有着强大的成软骨能力并且是构建软骨类器官强大的细胞来源。然而 iPSCs 作为构建软骨类器官的起始细胞也并非没有缺点, iPSCs 虽然具有快速增殖和高有丝分裂潜能, 但易发生核型变化可导致表观遗传和遗传稳定性下降。另外, 重编程的 iPSCs 可能具有致癌的风险。特别是来自 iPSCs 的细胞去分化和致癌的潜能使其安全性不能得到保证而阻碍了在临床中应用[45]-[47]。总之, iPSCs 虽优点众多, 但其构造软骨类器官真正应用于临床还需改进和进一步优化。相较于 iPSCs, ESCs 更稳定和安全, 同样也是构建软骨类器官的常用细胞。

### 3.1.3. ESCs (hESCs)

胚胎干细胞(ESCs)是从原始生殖细胞或早期胚胎中分离出来的一类细胞。ESCs 在体外培养可进行多向分化, 并且具有自我更新和无限增殖的潜能, 可诱导分化为包括软骨细胞在内的几乎所有类型的细胞。ESCs 在软骨类器官构建领域也被广泛应用。早年的研究已经报道了 ESCs 在生长因子的作用下与软骨细胞共培养可分化为软骨细胞, 奠定了 ESCs 用于构建软骨类器官的理论基础[45] [48]。已有研究报道了 ESCs 构建软骨类器官的成功案例, Keller 等人利用 ESCs 成功构建出了软骨类器官并将软骨细胞组织移植到免疫缺陷的受体体内, 在 8 周后稳定形成了软骨组织[49]; Lauren 等人利用 ESCs 构造出了颌面软骨类器官[50]。与其他细胞不同, ESCs 不仅可直接分化为软骨细胞, 还能分化为 MSCs, MSCs 进一步分化为软骨细胞协同完成软骨类器官的构建[45]。目前 MSCs 在软骨类器官构建领域的应用还处于探索阶段, 但其稳定及强大的分化潜能有望使其成为构建软骨类器官的最佳选择之一。

### 3.1.4. Non-Stem Cell Types

除了干细胞, 其他非干细胞在软骨修复、再生、重建和类器官构建领域也起着至关重要的作用。这些非干细胞类型细胞都有其独特的功能, 软骨类器官组织工程是一个复杂的系统, 需要多种细胞参与以实现其复杂的功能和更接近真实器官的结构[51]。例如, 软骨细胞、成骨细胞、破骨细胞、内皮细胞和成纤维细胞都是软骨和骨类器官构建不可或缺的细胞成分[30]。软骨细胞主要是通过调节 extracellular matrix (ECM) 的转换来维持软骨的结构和功能, 可模拟软骨化骨的过程[52]。成骨细胞通过调节骨基质形成和启动矿化来完成对骨组织的构建。骨吸收是维持骨骼结构和健康的重要环节, 这一环节正是通过破骨细胞来完成, 主要用于骨重建和骨质疏松的研究[51] [53]。内皮细胞在软骨细胞修复中主要功能是促进血管化以保证软骨的血供, 对软骨生成过程中起到营养支持作用, 促进类器官中微血管的形成。此外还有研究表明, 内皮细胞在特定的培养条件下可以促进软骨细胞分化为骨细胞, 在骨修复中促进软骨成骨[54] [55]。成纤维细胞参与骨和软骨修复和再生[55]。巨噬细胞和其他免疫细胞被用于研究免疫系统和软骨及骨组织的相互作用的研究[9]。总而言之, 各种 non-stem cell types 在软骨和骨类器官的构建中发挥着其独特的作用, 是重要组成部分。

总之, 各种类型细胞的协同作用在软骨和骨组织的再生和重建中发挥着关键作用。在复杂信号网络的调控下, 它们的协同作用对于成功构建功能性骨和软骨类器官至关重要, 促进了软骨组织工程和再生领域的发展。

### 3.2. 支架材料

所有细胞都需要适宜的生长环境才能生长、增殖、分化, 软骨类器官的细胞也同样如此。因此, 有必要模拟自然组织中 ECM 的特性, 为类器官培养提供更好的环境, 也就是 Scaffolds。目前软骨类器官构建所使用的支架材料多为水凝胶系统(Hydrogel systems), 主要有 Collagen-hydrogel、PEG-hydrogel、DNA-hydrogel 和 Silk fibroin-based hydrogels (见图 2)。

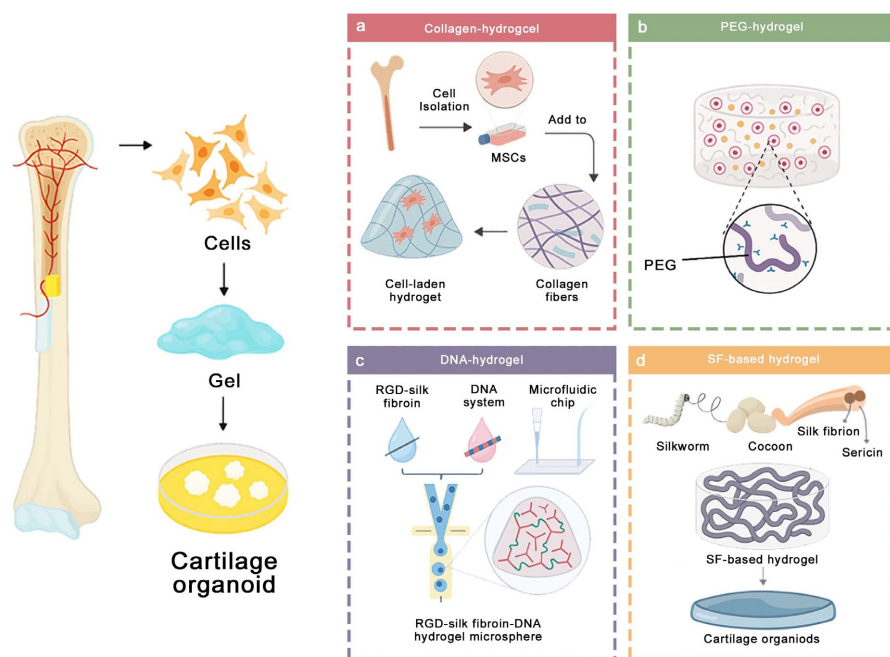


Figure 2. Biomaterials for organoid construction

图 2. 类器官构建用生物材料

### 3.2.1. 水凝胶系统

水凝胶是一种高含水量的三维互连网络材料, 它由水分子和聚合物网络组成, 结合了胶体物质的流动性和橡胶的弹性。表现出与生物组织相似的性能, 其三维网络结构类似于细胞外基质, 并且具有均匀孔隙以及良好的水溶胀性、降解性、优异的生物相容性、力学性能和细胞相容性, 这一系列优良特性使其成为软骨类器官支架的理想选择[37][56][57]。天然关节软骨具有“表层胶原平行排列、深层随机分布”的带状结构及硫酸软骨素浓度梯度, 这一异质性特征是其功能维持的核心, 传统均质支架无法模拟。受限塑性压缩技术可通过调控胶原纤维取向与硫酸软骨素浓度分布, 构建仿生梯度水凝胶支架, 封装软骨细胞后形成的类器官可特异性分泌表层区蛋白(SZP)与 II 型胶原, 且该异质性特征在体内可稳定保留, 实现软骨缺损的区域特异性再生[54]-[57]。近年的许多研究通过调控水凝胶的物理和化学性质来开发出更适合构建 CORGs 的新型水凝胶。例如改变水凝胶的抗压强度、孔隙结构和交联密度等参数使其有更好的力学性能从而提供稳定的支撑结构。改变化学环境和引入一些生物活性成分从而促进细胞黏附、增殖和分化[58][59]。使用水凝胶构建的 CORGs 需要材料和细胞在体外共培养, 材料会完全降解, 最终形成由细胞和 ECM 组成的软骨组织。可降解性是水凝胶和其他材料相比的一大优势。水凝胶不仅可以模拟软骨生理环境中的 ECM, 还可以为细胞生长提供支持结构和生物活性分子。水凝胶在 CORGs 的培养中具有多重作用, 因为它们不仅提供了一个 3D 环境, 而且模拟了软骨的独特性质和微环境[37][60][61]。传统水凝胶有其局限性, 研究者根据需要研发了多种杂交水凝胶供软骨类器官构建使用。

### 3.2.2. Collagen-Hydrogel

胶原蛋白是由多肽链组成的纤维结构蛋白, 大量存在于皮肤、肌腱、韧带、骨骼、血管、角膜和结缔组织中[62]。人体内胶原种类繁多, II 型胶原广泛分布于软骨组织 ECM 中。胶原作为软骨组织的主要有机成分, 在软骨组织工程中发挥着至关重要的生物学作用[63]。然而, 胶原具有机械强度低、降解速率不可控、可塑性有限和潜在免疫原性等缺点, 因此常与其他基质材料结合, 以解决这些局限性, 提高其在软骨组织工程应用中的整体有效性。Collagen-hydrogel 就是一种很好的组合并应用于软骨再生领域。Collagen-hydrogel 由于其生物相容性和促进细胞黏附和增殖的固有能力和通过各种交联技术得到了改进旨在更好地复制目标组织的机械性能[64]。Liu 等利用 MSC 结合胶原水凝胶微球成功制备软骨样组织[65]。Meike 等人采用了软骨细胞悬浮扩增方案, 组装来自骨关节炎(OA)和非退变(ND)来源的人软骨细胞, 形成含有 II 型胶原和蛋白聚糖的软骨类器官。然后将类器官包裹在黏弹性海藻酸盐水凝胶中, 形成更大的软骨类器官组织, 成功利用 Collagen-hydrogel 构建了软骨类器官[66]。胶原的生物相容性、生物可降解性和模拟天然 ECM 的能力使其成为创建软骨类器官支架的理想候选材料。

### 3.2.3. PEG-Hydrogel

聚乙二醇(PEG)水凝胶以其生物相容性、亲水性、无刺激性、人体内可代谢分解和无毒性的优良特性而被广泛应用于组织工程、药物递送、生物传感器等医学领域。与其他水凝胶材料相比, 聚乙二醇水凝胶具有更高的机械稳定性和通透性, 是一种理想的软骨类器官构建材料。其次, 通过化学修饰, PEG 可以调节其力学性能和降解速率, 为类器官生长提供理想的三维支架[67]-[70]。Yu 等人构建了一种无毒、生物可降解、机械优化的由聚乙二醇(PEG)和核黄素(KGN)共轭的壳聚糖(CHI)组成的双网络(DN)水凝胶。PEG-CHI-KGN DN 水凝胶具有良好的细胞亲和力、有良好的结构、合适的力学性能, 可促进外周血间充质干细胞(PB-MSCs)软骨特异性基因的表达和细胞外基质的分泌[71]。Yin 等人通过双重动态作用制备 Chitosan/polyethylene glycol-silicic acid (CS/PEG-SiW)双网络水凝胶。通过机械破碎将 CS/PEG-SiW 水凝胶粉碎成微水凝胶。基于微水凝胶之间的双重动态相互作用, CS/PEG-SiW 微水凝胶可连续注入并快速重组成稳定的多孔水凝胶。重组多孔水凝胶具有良好的细胞相容性, 可有效支持骨髓间充质干细胞

(BMSCs)的增殖和成软骨分化并在大鼠软骨缺损模型中验证了复合多孔 CS/PEG-SiW 水凝胶能够促进软骨再生[72]。推动了 PEG-hydrogel 在软骨修复和类器官构建领域的发展。

### 3.2.4. DNA-Hydrogel

DNA-hydrogel 主要是通过 DNA 碱基配对、共价键或物理连接等分子相互作用合成的, 以其生物相容性和可编程性而著称[45]。近年来, 基于 DNA 水凝胶的持续药物递送系统作为高效的药物递送策略和在软骨组织工程领域的应用得到了广泛的探索并取得了一系列进展。在前期 SF-DNA 双网络水凝胶用于软骨再生的研究基础上, 通过微流控系统, 结合光交联和 self-assembly techniques, 开发了一种新型的 RGD-SF-DNA hydrogel microsphere (RSD-MS)。体外研究表明, RSD-MSs 增强了骨髓间充质干细胞(BMSCs)的增殖、黏附和成软骨分化。转录组学分析显示 RSD-MSs 可诱导软骨形成。此外, 体内研究表明, 将 BMSCs 种植到 RSD-MSs 上以产生软骨类器官前体(cop)显著促进软骨再生。所以, RSD-MS 是构建和长期培养软骨类器官的理想候选方法, 为软骨再生和组织工程提供了一种创新的策略和材料选择[37]。Zhang 等利用 DNA-hydrogel 作为二甲双胍(MET)的缓释载体, 装载 MET 的 DNA 水凝胶被注射到关节腔中, 显著延长了 MET 在关节腔内停留的时间, 表现出有效的抗炎作用, 有望缓解骨关节炎[73]。DNA-hydrogel 由于其精确的力学性能和生物相容性, 被认为是软骨类器官的潜在基质。

综上所述, 天然水凝胶, 如 Matrigel 和胶原, 因为它们的成分对细胞无害, 并且能够模拟 ECM, 促进细胞生长和组织再生, 在软骨类器官的培育中起着重要作用。与此同时, PEG-hydrogel、DNA-hydrogel 等人工合成水凝胶因其生物相容性和可调谐性而日益突出, 证明了其在工程骨髓类器官和通过创新的交联和自组装技术促进软骨再生方面的作用。用于软骨类器官构建的水凝胶的研发仍在继续, 旨在创造不仅支持细胞生长和分化, 而且准确模拟天然软骨组织环境的力学和生化特性的材料。整合各种材料的优势, 对于提高这些水凝胶在再生医学和有效组织工程策略中的能力至关重要。

### 3.2.5. Silk Fibroin-Based Hydrogels

丝素蛋白 Silk fibroin (SF)是一种天然的大分子物质, 主要由蚕、蜘蛛、蝎子、螨虫和苍蝇一系列动物产生。蚕丝因其独特的结构和力学性能和丰富的产量而被临床广泛研究和应用[74] [75]。制备 Silk fibroin-based hydrogels 主要通过交联方法。交联方法一般分为化学方法和物理方法。化学交联通过添加交联剂、光引发剂和酶来促进共价键的形成, 加速 SF 的凝胶化。相比而言, 物理交联是通过调节温度、pH、电场、剪切力和超声等物理参数使 SF 自组装成水凝胶[76]。Silk fibroin-based hydrogels 在软骨类器官构建及应用领域有着诸多优势。首先, 其有着良好的生物学特性, Silk fibroin-based hydrogels 具有良好的生物相容性和生物可降解性。因为软骨类器官的构建是一个动态、连续的过程。应用于软骨类器官构建的 Silk fibroin-based hydrogels 具有合适的降解速率及降解产物均无细胞毒性, 并可被细胞吸收[77] [78]。其次, 其具有合适的内部结构, Silk fibroin-based hydrogels 具有亲水的三维多孔结构, 可以模拟软骨的 ECM。作为 ECM 的替代品, Silk fibroin-based hydrogels 的多孔结构可以为营养物质的扩散提供通道使软骨细胞的迁移和代谢废物的清除得以在这种材料中实现[79]-[82]。再者, 其具有优异的细胞负载能力, Silk fibroin-based hydrogels 具有优异的细胞负载能力, 可负载软骨细胞并促进其生长增殖, 从而实现软骨再生[37] [83]。重要的是, 其具有显著的生物活性物质输送能力, 类器官形成需要在不同方向进行多次分化, 形成多个细胞群, 这些细胞群重新组装成完整的器官需要直接诱导细胞。由于其优异的生物活性物质递送能力, Silk fibroin-based hydrogels 可以通过负载多肽、药物、外泌体或生长因子来调控细胞增殖、迁移和分化[84]。这一系列优点突出了 Silk fibroin-based hydrogels 在软骨再生、修复和软骨类器官构建方面的重要潜力。Silk fibroin-based hydrogels 是构建软骨类器官的理想材料, 可为软骨类器官构建提供了一种优质材料。

### 3.3. 诱导因子

细胞因子和诱导剂在协调软骨细胞增殖、分化、凋亡等细胞行为和促进组织形成等关键途径中不可或缺且发挥着关键的作用。这些细胞因子和诱导剂被装载入基质凝胶中通过与细胞表面受体结合, 激活指导细胞命运和发育的信号通路, 对类器官的初始形成和长期稳定至关重要。这些细胞因子和诱导剂还可以协同作用, 有助于模拟体内微环境, 促进类器官的成功培养[85][86]。研究者在此方面做了大量探索和挖掘并取得了一定成果, 例如 transforming growth factor beta-1 (TGF- $\beta$ )、IGFs、BMPs、FGFs、 $\beta$ -巯基乙醇、 $\beta$ -甘油磷酸、成纤维细胞生长因子(FGF-2)、cartilage-derived morphogenetic proteins (CDMP-1, 2)、血管内皮生长因子 A (VEGFA)、bone morphogenetic proteins (BMP-2, 4, 6, 7)、IL-3、IL-6、G-CSF (粒细胞集落刺激因子)、SCF (干细胞因子)、FLT3 配体、EPO (红细胞生成素)和 TPO (血小板生成素)、地塞米松、维生素 C、b-sodium glycerophosphate 等细胞因子均是调节软骨、骨或骨髓类器官细胞及组织生长的细胞因子和诱导剂[13][24][87][88]。BMP-2 对骨缺损具有再生作用, 并能增加碱性磷酸酶(ALP)和 RUNX 相关转录因子 2 (RUNX2)的表达。因此, 它已被用于分化干细胞向成骨细胞分化。含有 BMP-2 的支架可用于骨相关类器官构建[89][90]。TGF- $\beta$  通过调节细胞增殖、分化和 ECM 合成, 来促进组织再生, TGFs- $\beta$  family 是软骨发育过程中有效的生长因子之一。有研究者提出将这种生长因子与 micromass 结合, 提供一种类似于胚胎发育的软骨形成环境的 3D 培养用于研究软骨形成[91]。针对此构想, 一项研究利用无支架的微团环境形成 iPSC 细胞球, 并在消化后加入含有 TGF- $\beta$  的成软骨培养基, 类器官的 chondrogenic center 中 sulfated glycosaminoglycans (s-GAGs)和 COL2 的含量极为丰富, 显示出了促进软骨生成的效果[90][92]。成纤维细胞生长因子(FGF)-2 和 FGF-18 在成软骨分化中起重要作用, 并且似乎对间充质干细胞和软骨细胞有不同的作用。FGF-2 和 FGF-18 促进合成代谢和减少分解代谢细胞途径, 进而导致 MSCs 中 proteoglycan (PG)合成增加[93][94]。

此外, 不同诱导剂之间的协同作用为骨或软骨再生提供更好的再生环境。例如,  $\beta$ -甘油磷酸联合地塞米松和抗坏血酸可显著改善兔拔牙窝愈合的骨质量; 地塞米松可促进 BMP-2 诱导成骨细胞分化和骨再生; 结合含有 BMP-6 和 TGF- $\beta$ 3 的软骨介导培养基, 在培养了 21 天后形成了软骨壳。exterior region 的 COL2 和 GAG 含量较高, 证明其促进软骨生长[7][8][13][87]。在软骨细胞培养条件下, FGF-2 和 TGF- $\beta$  共同促进软骨 ECM 形成, 对软骨稳态至关重要[95]。IGF-1 可以协同 TGF $\beta$  和 BMP-7 促进间充质干细胞的成软骨分化[96]。

总而言之, 细胞因子在骨和软骨类器官构建中的应用不仅提高了组织工程构建物的质量和更好地模拟了生理状态下的骨和软骨组织, 而且有助于更深入地了解骨和软骨组织的生物学过程和探索促进软骨和骨组织的各种因子。这为骨和软骨相关疾病的治疗和机制研究提供了新的策略和方法(表 1)。

**Table 1.** Cytokines and inducers in cartilage organoids  
**表 1.** 软骨类器官中的细胞因子和诱导剂

类器官类型	细胞来源	细胞因子	诱导因子	方式	参考文献
Human cartilaginous organoids	human pluripotent stem cell (hPSCs) or ESCs	TGF- $\beta$ 3, TGF- $\beta$ 1, BMP-2, FGF-2, GDF-5	CHIR99021, $\beta$ -Mercaptoethanol, Verteporfin	<i>In vitro</i>	[97][98]
Murine osteochondral organoids	Murine iPSC	BMP-2, TGF- $\beta$ 3	Dexamethasone, $\beta$ -mercaptoethanol, $\beta$ -glycerophosphate	<i>In vitro</i>	[44]

续表

Human bone, Cartilage, and/or joint organoids	Human adiposederived mesenchymal cell, (hAMC)	TGF- $\beta$ 1, IGF-I	/	<i>In vitro</i> , <i>In vivo</i> .	[96]
Human skeletal organoids	MSCs and endothelial cells	TGF- $\beta$ 1, ITS, BMP-2, M-CSF	$\beta$ -glycerophosphate, A2AR agonist, A2AR antagonist, dexamethasone, ascorbate-2-phosphate	<i>In vitro</i>	[99]
Human cartilage organoids	Amniotic fluid mesenchymal stromal stem cells	TGF- $\beta$ 3	/	<i>In vitro</i>	[91]
Knee and ankle cartilage (both normal and OA)	Human chondrocytes	basic FGF (bFGF), FGF-18	/	<i>In vitro</i>	[95]
Callus organoid	PDCs	TGF- $\beta$ 1, BMP-6, BMP-2, GDF-5, FGF-2	dexamethasone, ascorbate-2 phosphate, proline	<i>In vitro</i>	[100]
OA equine organoid model	equine articular chondrocytes (eACs)	IL-1 $\beta$	BQ-123-CHI, R-954-HA	<i>In vitro</i>	[101]
Cartilage organoids	human primary articular chondrocytes (hPaCs)	/	bone morphogenetic protein 9 (BMP-9)	<i>In vitro</i>	[102]

### 3.4. 类器官的构造技术

软骨类器官的构建需要选择合适的构建技术, 每种技术在复制这些组织的复杂结构和功能方面发挥着不同的作用, 每种技术都有其独特的优势和不足。类器官领域常用的构建技术有: Microfluid、Bioreactors 和 Bioprinting。

#### 3.4.1. Microfluid

Microfluid 是一种在微米尺度上操控流体的技术, 通常通过微通道、微泵、微阀等微型装置来实现。它的核心特点是: 微小尺度、精确控制、高通量和多功能集成。与传统的细胞培养模型相比, Microfluid 为建立复杂类器官环境提供了一种强大的方法, 可以更好地模拟生理条件。Microfluid 可以通过复制 perfusion, mechanical forces, and other essential parameters 来了解特定的细胞反应和细胞微环境变化[103] [104]。使用 Microfluid 培养类器官有诸多优势, 首先, 微流控装置增强了对自体形态发生的控制, 从而减少了变异性的可能。第二, 小型化的培养系统减少了试剂的使用。第三, 自动化操作降低了人工经济成本, 同时也减少了人为失误。最后, 微囊系统可以加速类器官的成熟。因为软骨由少血管、少神经和纤维组成, 所以微囊系统特别适合软骨类器官研究。在软骨类器官方面, 微通道的加入增强了传质, 允许精确控制化学物质的分布。这一特征有助于创建 3D 结构, 更准确地复制天然组织, 使软骨组织的特定功能的复制成为可能[105] [106]。关节液的剪切力刺激是维持软骨细胞活性与功能的关键生理信号, 体外

静态培养因缺乏该信号导致类器官功能成熟度不足。微流控技术通过精准调控流体流速, 可模拟体内关节液的动态剪切力微环境, 同时实现营养物质的持续灌注, 解决类器官核心区域缺氧坏死的问题, 显著提升软骨类器官的基质分泌能力(如 II 型胶原、硫酸软骨素) [101]-[106]。Microfluid 主要提供精确的培养环境, 促进细胞自组织和分化; 模拟体内的生物力学环境, 增强类器官的功能; 实现高通量筛选, 加速药物开发和条件优化。

### 3.4.2. Bioreactors

传统上, “生物反应器”一词被用来描述设计成生产生物材料。在本文中, Bioreactors 是指任何用于增强体外细胞和组织的 3D 培养的设备。应用于类器官构建的 Bioreactors 主要有 stirred bioreactors, rotating wall vessels, Microfluidic bioreactors 和 electrical stimulation bioreactors [107]。Bioreactors 在骨和软骨类器官的构建中发挥着至关重要的作用, 因为它们能够提供一个生理相关的并且可控的环境用来支持细胞的生长、分化和成熟。Bioreactors 创造的细胞生存环境可以精确地调控温度、氧气水平、pH 值和营养供应等对类器官生长发育至关重要的生存因素, 从而使类器官的环境更接近体内生理环境, 使其更适合临床应用 [108] [109]。先进的 Bioreactors 技术已经开始解决许多类器官培养固有的问题, 例如为较大的 3D 组织提供充足的氧气和营养供给, 大型类器官和其它组织结构所需的大规模物质运输 [107]。此外, Bioreactors 可以使类器官大规模生产, 这对药物测试、药物研发和再生医学的转化应用意义重大 [110]。尽管 Bioreactors 可以大量生产类器官, 但在对于增大单个类器官的体积却效果一般。针对这一局限性, 可以使多个类器官同时生长试图改善这种不足。总之, 使用 Bioreactors 可以生产高质量、可复制和更接近天然组织环境的类器官, 这些类器官更适合组织工程及临床相关研究的应用。

### 3.4.3. Bioprinting

生物打印通过精确控制细胞和生物材料的空间分布从而实现对软骨组织及类器官 3D 结构的精确构建, 可精确控制生物物理特性, 如类器官的大小、细胞数量和结构, 从而创造出与自然组织非常相似的组织结构, 并且构建出的 3D 结构与自然组织有较高的相似度, 是当今推动组织工程领域快速发展的最强技术成就之一 [111]-[113]。bioprinting 通过沉积生物墨水层(细胞、生长因子和水凝胶的混合物)可以构建具有特定几何形状和成分的组织。其中打印设备或方法也是生物打印的关键组成部分, 因为它可以影响打印的组织分辨率、细胞活力和材料特性。市面上主要的 bioprinting 有 Inkjet-Based 3D Bioprinting、Extrusion-Based 3D Bioprinting、Laser-Assisted 3D Bioprinting 和 Photocuring-Based 3D Bioprinting [10] [112]。

Inkjet-Based 3D Bioprinting 是一种与传统喷墨打印机原理相同的方法, 利用声波或热量制造生物材料的液滴, 再形成所需的形状。具有打印速度快、易于控制、适用性广等优点 [114]-[117]。Extrusion-Based 3D Bioprinting 是一种基于挤出的 3D 生物打印方法, 可以打印各种不同粘度的水凝胶聚合物溶液和高密度聚合物。与其他方法相比, 机械驱动的方法打印精度更高, 因为其具有更好的流量调节效果和广泛的材料相容性 [112] [118]。Laser-Assisted 3D Bioprinting 使用了一种可以响应激光刺激的双层结构。它由负责吸收能量的上层和下层的生物墨水溶液组成。与喷墨打印机不同, 激光辅助打印机不使用喷嘴喷出生物墨水, 所以其对细胞不产生剪切力。因此, 打印出来的细胞生物活性更高。此外, Laser-Assisted 3D Bioprinting 具有非常高的打印分辨率, 甚至可以打印单个细胞 [119] [120]。Photocuring-Based 3D Bioprinting 是一种在软骨和骨修复领域应用广泛的 3D 打印技术。这些打印机使用 light-induced polymerization, 从 a barrel of resin 中创造出 3D 结构。与其他打印方法相比, Photocuring-Based 3D Bioprinting 由于在打印过程中不会对材料施加机械力, 因此细胞存活率较高、打印速度相对较快 [121]-[125]。

骨-软骨界面的梯度结构(成分、硬度渐变)是软骨再生的核心生物学难题, 传统培养方法难以模拟。

3D 打印技术通过多喷头交替打印策略, 可构建“顶部负载 TGF- $\beta$ 1 (软骨诱导因子)、底层含  $\beta$ -TCP (成骨活性成分)”的梯度支架, 实现骨-软骨一体化结构的仿生构建, 解决了传统组装式支架界面结合力弱、修复效果差的问题, 体内实验已证实其可同时促进软骨与软骨下骨再生[114]-[120]。总之, 虽然软骨类器官的 3D 生物打印仍处于早期阶段, 但具有巨大的潜力。该技术不仅在创建复制骨和软骨组织复杂结构的异质结构方面具有特别的优势, 而且还可以通过整合纳米颗粒进一步优化异质结构的创建, 其打印出的细胞活性更强、机械损伤小, 这对复制骨和软骨等复杂组织结构尤其重要。

#### 4. 软骨再生类器官的研究进展

关节软骨的再生能力相对其他组织较差, 以及骨和软骨同时修复的复杂性, 使软骨缺损修复成为目前临床的一大挑战。解决这些缺陷不仅对恢复关节功能至关重要, 而且对预防骨关节炎等疾病的进展也至关重要。疾病研究的重要载体为合适并具有代表性的疾病模型。目前, 二维细胞实验和动物实验仍是软骨相关疾病研究的主流模型。然而, 简单的单层细胞培养和单一细胞培养缺乏细胞间的相互作用, 无法真实模拟组织间复杂的生理状况; 虽然动物模型可以在这方面弥补细胞实验的不足, 但物种之间结构和生理差异使得实验结果不能完全代表人类软骨生理情况, 况且其还受巨大经济成本的限制。尽管也有外植体模型等其他体外研究模型, 尽管这些外植体模型可以模拟和再现一些人体组织和器官复杂的生理微环境和功能。但其来源不能充足供给, 达不到实验需求量, 且供体对实验结果影响较大。因此, 具有相似结构和生理功能的骨软骨类器官将是未来研究骨关节发育和疾病的理想模型。研究表明软骨类器官在生物发育、疾病建模、药物筛选和再生修复等方面具有广泛的潜在应用前景。现有的软骨类器官的研究为推动软骨疾病机制、治疗的研究做出了很大贡献[7] [31]。

软骨类器官的重要应用之一是在建模领域, 这也是软骨及其他组织类器官研究的第一步。这类器官可以来自于关节疾病的患者也可以通过体外干细胞及其他细胞联合构建, 从而为研究人员提供了一个更符合生理的系统来研究疾病。在最近的一项研究中, Cullier 等人通过 IL-1 $\beta$  诱导建立了马 OA 类器官模型。实验结果显示, 在通过白介素-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) 诱导的 OA 马类器官模型中, type A endothelin receptor antagonist (BQ-123-CHI) 和 type B1 bradykinin receptor antagonist (R-954-HA) 的联合使用大幅降低炎症标志物。这一发现强调了类器官作为研究关节疾病病理生理学和开发创新疗法的潜在潜力。[101] Messen 等人利用 bone morphogenetic protein 9 (BMP-9) 诱导 Human articular chondroprogenitor cells (haCPCs) 成功构建出了软骨类器官并应用于软骨缺损处, 最终 haCPCs 自组装并合成丰富的细胞外基质, haCPC 类器官融合成新生透明软骨样组织[102]。Sun 等人使用 human synovial mesenchymal stromal cells (SMSCs) 构建软骨类器官并成功应用于研究靶向修复软骨的 miR-24 [126]。Yang 等人针对 mesenchymal stem cells (MSCs) 向软骨和骨的定向分化不易控制这一问题, 开发出了透明质酸(HA)和羟基磷灰石(HYP)定制了基于明胶的微冷冻凝胶, 通过在体内自组装成骨软骨类器官来诱导软骨和骨再生(分别称为 CH-Microcryogels 和 OS-Microcryogels), mRNA-seq 分析显示, CH-Microcryogels 通过调节特定的信号通路促进软骨分化并抑制炎症反应, 而 OS-Microcryogels 通过调节特定的信号通路促进成骨分化并抑制免疫反应。最后, 在体内将预分化的定制微冷冻凝胶植入犬骨软骨缺损模型中, 导致骨软骨单元的自发组装, 诱导关节软骨和软骨下骨同时再生。所以, 这种利用定制微冷冻凝胶来生成自组装骨软骨类器官的新方法为组织工程领域的发展提供了一个很有前景的途径[12]。在不利用干细胞的情况下也可以构建出软骨类器官, 例如 Meike 等人分别利用 OA 和 ND 患者提供的 human chondrocyte 构建出不同的软骨类器官, 并使用 porcine notochordal cell-derived matrix (NCM) 培养 OA 来源的类器官以探索其对软骨修复的作用。结果显示含 OA 类器官的凝胶和含 ND 类器官的凝胶在 sulphated glycosaminoglycan 和 hydroxyproline 含量上没有差异。这为它们作为软骨再生平台的潜力提供了可能, 也为研究通路、病理学或药物开发提供了体外模型[127]。

Hall 等人提出了一种受发育启发的模块化方法,通过这种方法,不同的软骨类器官被用作活体构建模块,首先建立了一个分层结构,由三层软骨组织中间体组成,植入小鼠软骨缺损模型,ipsc 衍生的软骨微组织与前肥大软骨类器官结合在一起,可以在皮下植入时形成双重组织,功能构建模块的组装为生产复杂组织工程植入物提供了可能性,通过使用预先设计好的生物构建模块来嵌入特定区域以弥补和代替其功能[123]。此外,真正应用临床的软骨类器官首要具备的条件就是可大量生产。另一项研究探索了从牛软骨细胞大量生产软骨类器官的新方法。通过悬浮培养技术和脊索细胞来源基质的应用,研究者成功地快速生成了大量与天然透明软骨高度相似的类器官。这些工程类器官在 ECM 的组成、结构和生物物理特性方面与天然软骨相似,为软骨组织工程提供了强大的平台。另外,本研究特别强调了水凝胶的粘弹性在软骨形成中的重要性,揭示了通过调节水凝胶的粘弹性特性,可以促进类器官生长、融合并形成富含 II 型胶原和糖胺聚糖的均质软骨组织。这一发现对软骨组织工程材料的选择和设计具有指导意义,为实现关节面大规模软骨再生提供了新策略[61]。研究人员在软骨类器官构建方面,做了大量的探索和尝试,也一步步更新着构建方法和策略,为后续软骨疾病的研究打下了坚实的基础。还有望出现更好的、更具个性化的构建方法。

软骨类器官的主要应用之一就是结合药物来促进软骨再生,类器官的组成和结构与起源组织相似,重现了类似器官的一些生理功能。因此,类器官是建立疾病模型并进行药物测试同时促进软骨修复的优良选择。大多数药物在临床批准前需要长期体外和体内试验。然而,简单细胞模型和动物模型的局限性,导致细胞和动物实验中药物测试的代表性不强,不能完全反映药物对人体的真实疗效和毒性副作用。相对于利用传统的动物和细胞实验来进行药物的开发和测试,使用类器官来模拟人类疾病的病理生理环境将为药物筛选和测试提供新的思路。例如,Abraham 等人的研究利用 MSCs and endothelial cells 构建出软骨类器官来探索 Adenosine A2A receptor (A2AR)对软骨的修复作用,结果表明软骨类器官可以作为组织发育和疾病以及测试治疗药物的有效的生物学模型[99]。Sun 等人构建靶向衰老的 miR-24  $\mu$ S/SMSC 类器官水凝胶(MSOH)用于软骨修复,实验结果显示,miR-24 下调 TAOK1 的表达并促进 SMSC 类器官的软骨形成[126]。Cullier 等人为阐明 type A endothelin receptor antagonist (BQ-123-CHI)、type B1 bradykinin receptor antagonist (R-954-HA)在马软骨类器官模型抗炎中的作用。在通过白细胞介素-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ )诱导的 OA 马类器官模型中,BQ-123-CHI 和 R-954-HA 的 L 触联合用药触发了炎症和分解代谢标志物的最大降幅[101]。Laura 等人构建了一个具有软骨细胞肥大、分解代谢增强、软骨基质矿化和机械硬化等主要 OA 病理特征的人体器官型模型,将其置于含 IL-1Ra 等因子的环境中,并进行了基于质谱的蛋白质组学分析。发现 IL-1Ra 强烈地减少转录因子 CCAAT/enhancer-binding protein beta 的产生。因此,人类 OA 软骨类器官为发现软骨退变的新分子驱动因素和评估靶向相关通路的治疗提供了相关工具[124]。软骨类器官虽处于研究的起步阶段特别是在药物研发和测试方面还有很大空缺,但被认为是一种新型的体外药物筛选和测试模型并展现出了广阔前景。此外,利用工程技术快速、大量、高质量生产软骨类器官用于高通量药物筛选,为 OA 的药物开发及类器官结合药物治疗 OA 提供了更有利的研究方法和策略。

目前对于软骨类器官的研究主要是针对软骨组织修复,特别是骨关节炎的软骨再生治疗。软骨组织破坏是 OA 的主要病理改变,但由于关节软骨独特的结构和生理特性,软骨修复和重建面临巨大的挑战。目前临床上对软骨缺损的干预方法主要包括微骨折和自体或同种异体软骨细胞移植,严重的患者则进行创伤更大的关节置换术治疗。然而,由于供体组织有限以及移植物与周围组织的融合较差,均未达到较为理想的治疗效果。大量研究显示了较好的修复效果。Lin 等人利用 Human articular chondroprogenitor cells (haCPCs)结合 bone morphogenetic protein 9 (BMP-9)诱导,haCPCs 自组装并合成丰富的细胞外基质,haCPC 类器官融合成新生透明软骨样组织,haCPC 类器官融合成新生透明软骨样组织,显示了其改善软骨组织修复的潜力[102]。在软骨类器官应用于临床治疗软骨缺损时,很难完成个体化定制软骨类器官,并且其

经济成本很高不利于广泛应用,此时同种异体的类器官移植就十分重要。Kengo 等人构建的同种异体 iPSC 衍生的软骨类器官在灵长类动物膝关节软骨缺损模型中存活和融合,并被重塑为关节软骨。组织学分析显示,同种异体 iPSC 衍生的软骨类器官在软骨缺损中没有引起免疫反应。软骨类器官与宿主的固有节软骨整合,并防止周围软骨的退变。Single-cell RNAsequence analysis 显示,软骨类器官在移植后分化,获得了对关节润滑相关的 PRG4 的表达。研究结果表明,iPSC 来源的软骨类器官的同种异体移植有望在临床上用于治疗关节软骨缺损患者。类器官如果想在临床应用的一个重要特性就是创伤小且操作简单,复杂的操作都会阻碍其在临床的广泛应用。对此问题,Yang 等人分别使用 hyaluronic acid (HA)和 hydroxyapatite (HYP)定制了基于明胶的微冷冻凝胶,通过在体内自组装成骨软骨类器官来诱导软骨和骨再生(分别称为 CH-Microcryogels 和 OS-Microcryogels)。实验显示,定制的微冻凝胶类器官具有良好的细胞相容性并可抑制炎症反应和免疫反应,可诱导 MSCs 向软骨和成骨方向分化,同时具有自组装成骨软骨类器官的能力。动物模型中其可诱导关节软骨和软骨下骨同时再生,显示了很好的修复效果。这种利用定制微冷冻凝胶来生成自组装骨软骨类器官的新方法为软骨组织再生工程领域提供了一个操作简单并很有前景的途径[12]。

软骨类器官在疾病建模、药物筛选和再生修复方面展现出广阔的应用前景。其通过模拟人体组织微环境,为研究骨关节疾病提供了更精准模型。未来,利用软骨类器官开发新的 OA 疾病模型和新的治疗策略将进一步促进对 OA 疾病的认识和治疗。这些研究不仅为软骨再生提供了新思路,还为临床应用奠定了基础。

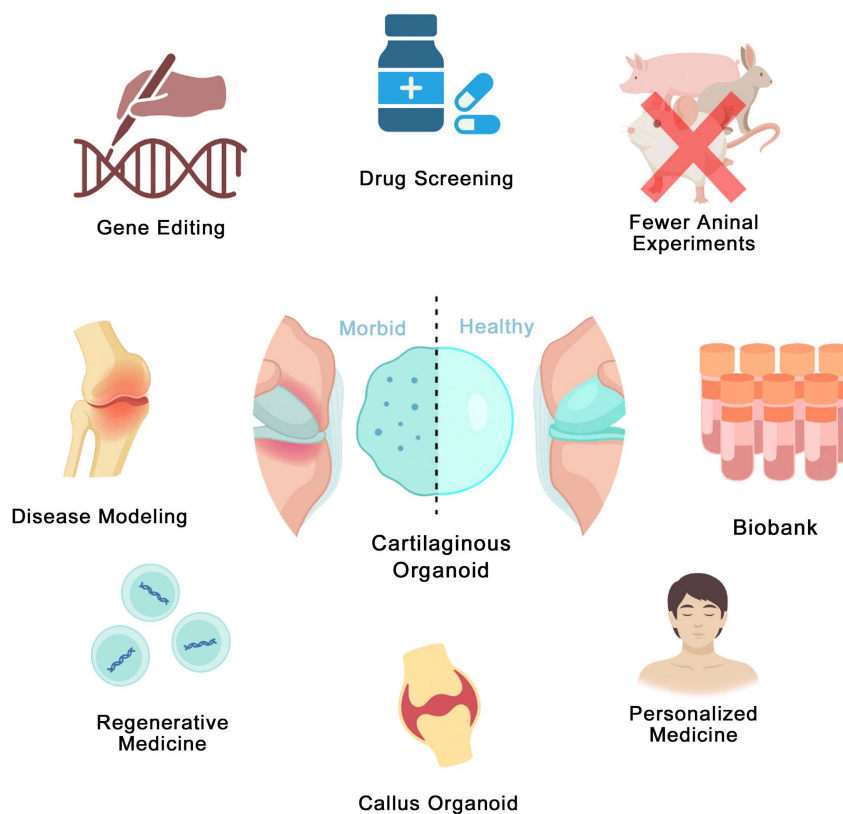
## 5. 软骨类器官技术的缺点

虽然,快速发展的软骨类器官工程领域为组织再生、疾病建模和药物发现提供了新的方法,提供了比传统二维细胞培养和动物模型更有生理学意义的平台。然而,仍然存在重大挑战和缺陷,特别是在构造复杂的组织层次结构和天然组织的生物力学特性方面。首先,结构和功能不完全模拟体内环境:软骨类器官虽然能在一定程度上模拟软骨组织的结构和功能,但由于组织细胞的多样性和体内生理复杂性,无法完全重现体内的生理环境。例如,软骨类器官中的细胞在与细胞之间的信号因子相互作用时,不能像体内细胞那样发挥出完整的生理功能,导致其在某些方面与真实的软骨组织存在差异[7] [17]。第二,分化和成熟调控复杂,细胞的分化和成熟是一个复杂的生物信息调节过程,需要多种信号因子协同支持。目前的培养条件虽然能促使软骨类器官的形成,但在细胞成熟度的调控上还存在不足,这可能会限制其在生物发育模型中的应用。第三,类器官的长期稳定性和功能活性仍然存在缺陷,随着时间的推移,类器官会因营养扩散不足而出现核心坏死等问题,使其寿命不能保证,可能面临二次或多次补充更换的困境。第四,潜在的去分化和致瘤风险,例如从 iPSCs 衍生的软骨类器官细胞存在去分化或致瘤的潜在风险,这对临床应用构成了重大挑战和埋下了潜在风险[121]-[127]。第五,力学性能不匹配问题,软骨组织的力学性能与周围组织存在差异,软骨类器官在植入体内后,可能无法承受与宿主组织相同的力学负荷,导致植入部位的变形和损伤。第六,打印后的细胞活力问题,细胞相容性差和降解相关毒性等局限性限制了其发展和应用。其次,确定不同支架、细胞和生物材料的组合,以完美地创造促进组织生长并接近于天然组织环境的类器官微环境是当下此领域面临的当务之急。总之,软骨类器官虽然在软骨组织工程和疾病研究中具有巨大潜力,但目前仍存在一些缺陷还需科研工作者们进一步探索和开发新技术和新方法[127]-[131]。

## 6. 软骨类器官技术的前景

软骨类器官技术的进步克服了二维细胞培养和动物模型的局限性成为了一个强大的模型平台,特别

是在组织修复、再生和疾病模型构建、药物筛选等方面, 软骨类器官有着强大的前景。首先, 类器官再生治疗的生物工程策略是此领域的未来发展的重中之重, 软骨类器官具有利用种子细胞分化为软骨细胞的能力, 为软骨组织工程提供了理想的种子细胞。它们可以在体外大量扩增, 并形成具有良好生物活性的软骨组织, 有望用于修复软骨损伤和缺损, 如骨关节炎、关节软骨损伤和软骨发育不良等。通过优化软骨类器官的培养条件和诱导分化方法, 可以提高组织再生的效率和质量, 为临床治疗提供更多的选择。移植软骨类器官到病患处, 可以促进软骨组织的再生和修复, 恢复软骨的功能和结构, 改善关节活动度和生活质量[7][14][17][124]。其次, 在骨软骨修复方面, 软骨类器官与骨组织相结合, 形成骨软骨组织, 为骨软骨损伤的修复提供了新的策略。通过构建骨软骨类器官, 可以模拟骨软骨界面的结构和功能, 促进骨软骨组织的再生和修复, 提高关节功能的恢复效果, 特别是对膝关节退变的治疗效果显著[12]。再者, 对于个性化治疗, 软骨类器官有着独特的优势和广大的前景, 可以从患者自身的细胞中诱导生成软骨类器官, 进行个性化的药物筛选和治疗。这有助于为患者提供更加精准的治疗方案, 提高治疗效果, 减少不良反应的发生[7]。另外, 药物筛选方面, 软骨类器官能够在体外模拟软骨组织的生理环境, 为药物筛选提供了更接近体内的模型。利用软骨类器官进行药物筛选, 可以提高药物筛选的效率和准确性, 减少动物实验的使用, 降低药物研发的成本和风险[126]。最后, 多学科合作方面, 软骨类器官的研究需要涉及多个学科领域, 如生物学、材料科学、医学等。多学科合作的加强有助于整合不同学科的优势和资源, 推动软骨类器官的研究和应用取得更大的进展(见图 3)。总之, 这些类器官在软骨再生、组织修复、个性化治疗、药物研发和筛选方面具有巨大的潜力。持续地研究探索和技术进步一定使我们不断克服其缺陷并更充分地实现软骨类器官技术在生物医学工程和再生医学中的应用潜力[126]-[133]。



**Figure 3.** Future application prospects of organoids  
**图 3.** 类器官的未来应用前景

## 7. 结论

软骨类器官技术作为近年来组织工程和再生医学领域的重要突破, 为软骨再生、疾病建模和药物筛选提供了全新的研究平台。相较于传统的二维细胞培养和动物模型, 软骨类器官能够更真实地模拟体内软骨组织的复杂结构和功能, 为研究软骨发育、疾病机制以及开发新型治疗策略提供了有力工具。本文综述了软骨类器官的构建策略、研究进展及其在软骨再生医学中的应用, 并探讨了当前技术面临的挑战和未来发展方向。

## 基金项目

本文章由济宁市重点研发计划项目支持(基金编号: 2022-yxyc-007)。

## 参考文献

- [1] Fang, E.F., Xie, C., Schenkel, J.A., Wu, C., Long, Q., Cui, H., *et al.* (2020) A Research Agenda for Ageing in China in the 21st Century (2nd Edition): Focusing on Basic and Translational Research, Long-Term Care, Policy and Social Networks. *Ageing Research Reviews*, **64**, Article ID: 101174. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2020.101174>
- [2] Tagliaferri, C., Wittrant, Y., Davicco, M., Walrand, S. and Coxam, V. (2015) Muscle and Bone, Two Interconnected Tissues. *Ageing Research Reviews*, **21**, 55-70. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2015.03.002>
- [3] Cui, C., Fu, Q., Meng, L., Hao, S., Dai, R. and Yang, J. (2021) Recent Progress in Natural Biopolymers Conductive Hydrogels for Flexible Wearable Sensors and Energy Devices: Materials, Structures, and Performance. *ACS Applied Bio Materials*, **4**, 85-121. <https://doi.org/10.1021/acsabm.0c00807>
- [4] Kuo, C.L. (2023) The Role of Nurses in Bridging the Health Literacy Gap: Empowering Patients in the Post-Pandemic Era. *The Journal of Nursing*, **70**, 4-6.
- [5] Clevers, H. (2016) Modeling Development and Disease with Organoids. *Cell*, **165**, 1586-1597. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2016.05.082>
- [6] Chen, K.G., Park, K. and Spence, J.R. (2021) Studying SARS-CoV-2 Infectivity and Therapeutic Responses with Complex Organoids. *Nature Cell Biology*, **23**, 822-833. <https://doi.org/10.1038/s41556-021-00721-x>
- [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] Faeed, M., Ghiasvand, M., Fareghzadeh, B. and Taghiyar, L. (2024) Osteochondral Organoids: Current Advances, Applications, and Upcoming Challenges. *Stem Cell Research & Therapy*, **15**, Article No. 183. <https://doi.org/10.1186/s13287-024-03790-5>
- [9] Wang, J., Chen, X., Li, R., Wang, S., Geng, Z., Shi, Z., *et al.* (2025) Standardization and Consensus in the Development and Application of Bone Organoids. *Theranostics*, **15**, 682-706. <https://doi.org/10.7150/thno.105840>
- [10] Hu, Y., Zhang, H., Wang, S., Cao, L., Zhou, F., Jing, Y., *et al.* (2023) Bone/Cartilage Organoid On-Chip: Construction Strategy and Application. *Bioactive Materials*, **25**, 29-41. <https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2023.01.016>
- [11] Dhawan, A., Kennedy, P.M., Rizk, E.B. and Ozbolat, I.T. (2019) Three-Dimensional Bioprinting for Bone and Cartilage Restoration in Orthopaedic Surgery. *Journal of the American Academy of Orthopaedic Surgeons*, **27**, e215-e226. <https://doi.org/10.5435/jaaos-d-17-00632>
- [12] Yang, Z., Wang, B., Liu, W., Li, X., Liang, K., Fan, Z., *et al.* (2023) *In Situ* Self-Assembled Organoid for Osteochondral Tissue Regeneration with Dual Functional Units. *Bioactive Materials*, **27**, 200-215. <https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2023.04.002>
- [13] Chen, J., He, Y., Shan, C., Pan, Q., Li, M. and Xia, D. (2015) Topical Combined Application of Dexamethasone, Vitamin C, and B-Sodium Glycerophosphate for Healing the Extraction Socket in Rabbits. *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, **44**, 1317-1323. <https://doi.org/10.1016/j.ijom.2015.06.011>
- [14] Lin, W., Wang, M., Xu, L., Tortorella, M. and Li, G. (2023) Cartilage Organoids for Cartilage Development and Cartilage-Associated Disease Modeling. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, **11**, Article 1125405. <https://doi.org/10.3389/fcell.2023.1125405>
- [15] Wang, X., Liu, N., Zhang, H., Yin, Z. and Zha, Z. (2023) From Cells to Organs: Progress and Potential in Cartilaginous Organoids Research. *Journal of Translational Medicine*, **21**, Article No. 926. <https://doi.org/10.1186/s12967-023-04591-9>
- [16] Giannoni, P. and Cancedda, R. (2006) Articular Chondrocyte Culturing for Cell-Based Cartilage Repair: Needs and

- Perspectives. *Cells Tissues Organs*, **184**, 1-15. <https://doi.org/10.1159/000096946>
- [17] Kim, J., Koo, B. and Knoblich, J.A. (2020) Human Organoids: Model Systems for Human Biology and Medicine. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, **21**, 571-584. <https://doi.org/10.1038/s41580-020-0259-3>
- [18] Yao, Y. and Wang, Y. (2013) ATDC5: An Excellent *in Vitro* Model Cell Line for Skeletal Development. *Journal of Cellular Biochemistry*, **114**, 1223-1229. <https://doi.org/10.1002/jcb.24467>
- [19] Luo, X., Wang, J., Wei, X., Wang, S. and Wang, A. (2020) Knockdown of LncRNA MFI2-AS1 Inhibits Lipopolysaccharide-Induced Osteoarthritis Progression by miR-130a-3p/TCF4. *Life Sciences*, **240**, Article ID: 117019. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2019.117019>
- [20] Lee, S., Lee, J., Choi, S., Kim, E., Kwon, H., Lee, J., *et al.* (2024) Biofabrication of 3D Adipose Tissue via Assembly of Composite Stem Cell Spheroids Containing Adipo-Inductive Dual-Signal Delivery Nanofibers. *Biofabrication*, **16**, Article ID: 035018. <https://doi.org/10.1088/1758-5090/ad4a67>
- [21] Brassard, J.A., Nikolaev, M., Hübscher, T., Hofer, M. and Lutolf, M.P. (2021) Recapitulating Macro-Scale Tissue Self-Organization through Organoid Bioprinting. *Nature Materials*, **20**, 22-29. <https://doi.org/10.1038/s41563-020-00803-5>
- [22] Wuelling, M. and Vortkamp, A. (2014) Cartilage Explant Cultures. In: Hilton, M., Ed., *Skeletal Development and Repair*, Humana Press, 89-97. [https://doi.org/10.1007/978-1-62703-989-5\\_7](https://doi.org/10.1007/978-1-62703-989-5_7)
- [23] Zhang, J., Tan, X., Li, W., Wang, Y., Wang, J., Cheng, X., *et al.* (2005) Smad4 Is Required for the Normal Organization of the Cartilage Growth Plate. *Developmental Biology*, **284**, 311-322. <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2005.05.036>
- [24] Szponder, T., Latalski, M., Danielewicz, A., Krać, K., Kozera, A., Drzewiecka, B., *et al.* (2022) Osteoarthritis: Pathogenesis, Animal Models, and New Regenerative Therapies. *Journal of Clinical Medicine*, **12**, Article 5. <https://doi.org/10.3390/jcm12010005>
- [25] Marx, U., Akabane, T., Andersson, T.B., *et al.* (2020) Biology-Inspired Microphysiological Systems to Advance Patient Benefit and Animal Welfare in Drug Development. *ALTEX*, **37**, 365-394.
- [26] Panoutsopoulos, A.A. (2021) Organoids, Assembloids, and Novel Biotechnology: Steps Forward in Developmental and Disease-Related Neuroscience. *The Neuroscientist*, **27**, 463-472. <https://doi.org/10.1177/1073858420960112>
- [27] Fowler, J.L., Ang, L.T. and Loh, K.M. (2020) A Critical Look: Challenges in Differentiating Human Pluripotent Stem Cells into Desired Cell Types and Organoids. *WIREs Developmental Biology*, **9**, e368. <https://doi.org/10.1002/wdev.368>
- [28] Baptista, L.S., Kronemberger, G.S., Côrtes, I., Charelli, L.E., Matsui, R.A.M., Palhares, T.N., *et al.* (2018) Adult Stem Cells Spheroids to Optimize Cell Colonization in Scaffolds for Cartilage and Bone Tissue Engineering. *International Journal of Molecular Sciences*, **19**, Article 1285. <https://doi.org/10.3390/ijms19051285>
- [29] Jensen, K.B. and Little, M.H. (2023) Organoids Are Not Organs: Sources of Variation and Misinformation in Organoid Biology. *Stem Cell Reports*, **18**, 1255-1270. <https://doi.org/10.1016/j.stemcr.2023.05.009>
- [30] Brassard, J.A. and Lutolf, M.P. (2019) Engineering Stem Cell Self-Organization to Build Better Organoids. *Cell Stem Cell*, **24**, 860-876. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2019.05.005>
- [31] Zeng, D., Chen, Y., Liao, Z., Wei, G., Huang, X., Liang, R., *et al.* (2023) Cartilage Organoids and Osteoarthritis Research: A Narrative Review. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, **11**, Article 1278692. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2023.1278692>
- [32] Solorio, L.D., Phillips, L.M., McMillan, A., Cheng, C.W., Dang, P.N., Samorezov, J.E., *et al.* (2015) Spatially Organized Differentiation of Mesenchymal Stem Cells within Biphasic Microparticle-Incorporated High Cell Density Osteochondral Tissues. *Advanced Healthcare Materials*, **4**, 2306-2313. <https://doi.org/10.1002/adhm.201500598>
- [33] Lozito, T.P., Alexander, P.G., Lin, H., Gottardi, R., Cheng, A.W. and Tuan, R.S. (2013) Three-Dimensional Osteochondral Microtissue to Model Pathogenesis of Osteoarthritis. *Stem Cell Research & Therapy*, **4**, Article No. S6. <https://doi.org/10.1186/scrt367>
- [34] Takayama, Y., Kusamori, K. and Nishikawa, M. (2021) Mesenchymal Stem/stromal Cells as Next-Generation Drug Delivery Vehicles for Cancer Therapeutics. *Expert Opinion on Drug Delivery*, **18**, 1627-1642. <https://doi.org/10.1080/17425247.2021.1960309>
- [35] Bian, L., Zhai, D.Y., Tous, E., Rai, R., Mauck, R.L. and Burdick, J.A. (2011) Enhanced MSC Chondrogenesis Following Delivery of TGF- $\beta$ 3 from Alginate Microspheres within Hyaluronic Acid Hydrogels *in Vitro* and *in Vivo*. *Biomaterials*, **32**, 6425-6434. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2011.05.033>
- [36] Gao, L., Orth, P., Cucchiari, M. and Madry, H. (2017) Effects of Solid Acellular Type-I/III Collagen Biomaterials on *in Vitro* and *in Vivo* Chondrogenesis of Mesenchymal Stem Cells. *Expert Review of Medical Devices*, **14**, 717-732. <https://doi.org/10.1080/17434440.2017.1368386>
- [37] Shen, C., Wang, J., Li, G., Hao, S., Wu, Y., Song, P., *et al.* (2024) Boosting Cartilage Repair with Silk Fibroin-DNA Hydrogel-Based Cartilage Organoid Precursor. *Bioactive Materials*, **35**, 429-444. <https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2024.02.016>

- [38] Dominici, M., Le Blanc, K., Mueller, I., Slaper-Cortenbach, I., Marini, F.C., Krause, D.S., *et al.* (2006) Minimal Criteria for Defining Multipotent Mesenchymal Stromal Cells. The International Society for Cellular Therapy Position Statement. *Cytotherapy*, **8**, 315-317. <https://doi.org/10.1080/14653240600855905>
- [39] Chamberlain, G., Fox, J., Ashton, B. and Middleton, J. (2007) Concise Review: Mesenchymal Stem Cells: Their Phenotype, Differentiation Capacity, Immunological Features, and Potential for Homing. *Stem Cells*, **25**, 2739-2749. <https://doi.org/10.1634/stemcells.2007-0197>
- [40] Vail, D.J., Somoza, R.A. and Caplan, A.I. (2022) MicroRNA Regulation of Bone Marrow Mesenchymal Stem Cell Chondrogenesis: Toward Articular Cartilage. *Tissue Engineering Part A*, **28**, 254-269. <https://doi.org/10.1089/ten.tea.2021.0112>
- [41] Diederichs, S., Klampfleuthner, F.A.M., Moradi, B. and Richter, W. (2019) Chondral Differentiation of Induced Pluripotent Stem Cells without Progression into the Endochondral Pathway. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, **7**, Article 270. <https://doi.org/10.3389/fcell.2019.00270>
- [42] Yamashita, A. and Tsumaki, N. (2021) Recent Progress of Animal Transplantation Studies for Treating Articular Cartilage Damage Using Pluripotent Stem Cells. *Development, Growth & Differentiation*, **63**, 72-81. <https://doi.org/10.1111/dgd.12706>
- [43] Limraksasin, P., Kondo, T., Zhang, M., Okawa, H., Osathanon, T., Pavasant, P., *et al.* (2020) *In Vitro* Fabrication of Hybrid Bone/Cartilage Complex Using Mouse Induced Pluripotent Stem Cells. *International Journal of Molecular Sciences*, **21**, Article 581. <https://doi.org/10.3390/ijms21020581>
- [44] O'Connor, S.K., Katz, D.B., Oswald, S.J., Groneck, L. and Guilak, F. (2021) Formation of Osteochondral Organoids from Murine Induced Pluripotent Stem Cells. *Tissue Engineering Part A*, **27**, 1099-1109. <https://doi.org/10.1089/ten.tea.2020.0273>
- [45] Li, X., Sheng, S., Li, G., Hu, Y., Zhou, F., Geng, Z., *et al.* (2024) Research Progress in Hydrogels for Cartilage Organoids. *Advanced Healthcare Materials*, **13**, e2400431. <https://doi.org/10.1002/adhm.202400431>
- [46] Liu, Z., Tang, Y., Lü, S., Zhou, J., Du, Z., Duan, C., *et al.* (2013) The Tumorigenicity of iPS Cells and Their Differentiated Derivates. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, **17**, 782-791. <https://doi.org/10.1111/jcmm.12062>
- [47] Medvedev, S.P., Shevchenko, A.I. and Zakian, S.M. (2010) Induced Pluripotent Stem Cells: Problems and Advantages When Applying Them in Regenerative Medicine. *Acta Naturae*, **2**, 18-27. <https://doi.org/10.32607/20758251-2010-2-2-18-27>
- [48] Bigdeli, N., Karlsson, C., Strehl, R., Concaro, S., Hyllner, J. and Lindahl, A. (2009) Coculture of Human Embryonic Stem Cells and Human Articular Chondrocytes Results in Significantly Altered Phenotype and Improved Chondrogenic Differentiation. *Stem Cells*, **27**, 1812-1821. <https://doi.org/10.1002/stem.114>
- [49] Craft, A.M., Ahmed, N., Rockel, J.S., Baht, G.S., Alman, B.A., Kandel, R.A., *et al.* (2013) Specification of Chondrocytes and Cartilage Tissues from Embryonic Stem Cells. *Development*, **140**, 2597-2610. <https://doi.org/10.1242/dev.087890>
- [50] Foltz, L., Avabhath, N., Lanchy, J., Levy, T., Possemato, A., Ariss, M., *et al.* (2024) Craniofacial Chondrogenesis in Organoids from Human Stem Cell-Derived Neural Crest Cells. *iScience*, **27**, Article ID: 109585. <https://doi.org/10.1016/j.isci.2024.109585>
- [51] Zhao, D., Saining, Q., Li, Y., Tang, Y. and Cui, W. (2024) Bone Organoids: Recent Advances and Future Challenges. *Advanced Healthcare Materials*, **13**, e2302088. <https://doi.org/10.1002/adhm.202302088>
- [52] Freyria, A. and Mallein-Gerin, F. (2012) Chondrocytes or Adult Stem Cells for Cartilage Repair: The Indisputable Role of Growth Factors. *Injury*, **43**, 259-265. <https://doi.org/10.1016/j.injury.2011.05.035>
- [53] Cui, J., Shibata, Y., Zhu, T., Zhou, J. and Zhang, J. (2022) Osteocytes in Bone Aging: Advances, Challenges, and Future Perspectives. *Ageing Research Reviews*, **77**, Article ID: 101608. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2022.101608>
- [54] Hong, J., Zheng, W., Wang, X., Hao, Y. and Cheng, G. (2022) Biomedical Polymer Scaffolds Mimicking Bone Marrow Niches to Advance *In Vitro* Expansion of Hematopoietic Stem Cells. *Journal of Materials Chemistry B*, **10**, 9755-9769. <https://doi.org/10.1039/d2tb01211a>
- [55] 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>
- [56] Xue, X., Hu, Y., Wang, S., Chen, X., Jiang, Y. and Su, J. (2022) Fabrication of Physical and Chemical Crosslinked Hydrogels for Bone Tissue Engineering. *Bioactive Materials*, **12**, 327-339. <https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2021.10.029>
- [57] Zhang, H., Wu, S., Chen, W., Hu, Y., Geng, Z. and Su, J. (2023) Bone/Cartilage Targeted Hydrogel: Strategies and Applications. *Bioactive Materials*, **23**, 156-169. <https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2022.10.028>
- [58] Wu, S., Zhang, H., Wang, S., Sun, J., Hu, Y., Liu, H., *et al.* (2023) Ultrasound-Triggered *In Situ* Gelation with Ros-Controlled Drug Release for Cartilage Repair. *Materials Horizons*, **10**, 3507-3522. <https://doi.org/10.1039/d3mh00042g>

- [59] Kang, J., Li, Y., Qin, Y., Huang, Z., Wu, Y., Sun, L., *et al.* (2023) *In Situ* Deposition of Drug and Gene Nanoparticles on a Patterned Supramolecular Hydrogel to Construct a Directionally Osteochondral Plug. *Nano-Micro Letters*, **16**, Article No. 18. <https://doi.org/10.1007/s40820-023-01228-w>
- [60] Kronemberger, G.S., Spagnuolo, F.D., Karam, A.S., Chattahy, K., Storey, K.J. and Kelly, D.J. (2024) Rapidly Degrading Hydrogels to Support Biofabrication and 3D Bioprinting Using Cartilage Microtissues. *ACS Biomaterials Science & Engineering*, **10**, 6441-6450. <https://doi.org/10.1021/acsbiomaterials.4c00819>
- [61] Crispim, J.F. and Ito, K. (2021) De Novo Neo-Hyaline-Cartilage from Bovine Organoids in Viscoelastic Hydrogels. *Acta Biomaterialia*, **128**, 236-249. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2021.04.008>
- [62] Amirrah, I.N., Lokanathan, Y., Zulkiflee, I., Wee, M.F.M.R., Motta, A. and Fauzi, M.B. (2022) A Comprehensive Review on Collagen Type I Development of Biomaterials for Tissue Engineering: From Biosynthesis to Bioscaffold. *Bio-medicines*, **10**, Article 2307. <https://doi.org/10.3390/biomedicines10092307>
- [63] Liu, D., Nikoo, M., Boran, G., Zhou, P. and Regenstein, J.M. (2015) Collagen and Gelatin. *Annual Review of Food Science and Technology*, **6**, 527-557. <https://doi.org/10.1146/annurev-food-031414-111800>
- [64] Zheng, M., Wang, X., Chen, Y., Yue, O., Bai, Z., Cui, B., *et al.* (2023) A Review of Recent Progress on Collagen-Based Biomaterials. *Advanced Healthcare Materials*, **12**, e2202042. <https://doi.org/10.1002/adhm.202202042>
- [65] Liu, J., Yu, C., Chen, Y., Cai, H., Lin, H., Sun, Y., *et al.* (2017) Fast Fabrication of Stable Cartilage-Like Tissue Using Collagen Hydrogel Microsphere Culture. *Journal of Materials Chemistry B*, **5**, 9130-9140. <https://doi.org/10.1039/c7tb02535a>
- [66] Kleuskens, M.W.A., Crispim, J.F., van Doeselaar, M., van Donkelaar, C.C., Janssen, R.P.A. and Ito, K. (2023) Neocartilage Formation Using Human Nondegenerate versus Osteoarthritic Chondrocyte-Derived Cartilage Organoids in a Viscoelastic Hydrogel. *Journal of Orthopaedic Research*, **41**, 1902-1915. <https://doi.org/10.1002/jor.25540>
- [67] Zustiak, S.P. and Leach, J.B. (2010) Hydrolytically Degradable Poly(Ethylene Glycol) Hydrogel Scaffolds with Tunable Degradation and Mechanical Properties. *Biomacromolecules*, **11**, 1348-1357. <https://doi.org/10.1021/bm100137q>
- [68] Jamaluddin, M.F.B., Ghosh, A., Ingle, A., Mohammed, R., Ali, A., Bahrami, M., *et al.* (2022) Bovine and Human Endometrium-Derived Hydrogels Support Organoid Culture from Healthy and Cancerous Tissues. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **119**, e2208040119. <https://doi.org/10.1073/pnas.2208040119>
- [69] Wilson, R.L., Swaminathan, G., Ettayebi, K., Bomidi, C., Zeng, X., Blutt, S.E., *et al.* (2021) Protein-Functionalized Poly(Ethylene Glycol) Hydrogels as Scaffolds for Monolayer Organoid Culture. *Tissue Engineering Part C: Methods*, **27**, 12-23. <https://doi.org/10.1089/ten.tec.2020.0306>
- [70] Lee, Y.J., Kim, K.C., Lee, J.M., Lim, J.M. and Lee, S.T. (2023) Development of Polyethylene Glycol-Based Hydrogels Optimized for *in Vitro* 3D Culture of HepG2 Hepatocarcinoma Cells. *Anticancer Research*, **43**, 4373-4377. <https://doi.org/10.21873/anticancer.16633>
- [71] Chen, Y., Yan, X., Yuan, F., Lin, L., Wang, S., Ye, J., *et al.* (2022) Kartogenin-Conjugated Double-Network Hydrogel Combined with Stem Cell Transplantation and Tracing for Cartilage Repair. *Advanced Science*, **9**, e2105571. <https://doi.org/10.1002/advs.202105571>
- [72] Shi, T., Niu, D., You, J., Li, S., Li, G., Ren, K., *et al.* (2023) Injectable Macro-Porous Chitosan/Polyethylene Glycol-Silicotungstic Acid Double-Network Hydrogels Based on "Smashed Gels Recombination" Strategy for Cartilage Tissue Engineering. *International Journal of Biological Macromolecules*, **233**, Article ID: 123541. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.123541>
- [73] Zhang, C., Huang, H., Chen, J., Zuo, T., Ou, Q., Ruan, G., *et al.* (2023) DNA Supramolecular Hydrogel-Enabled Sustained Delivery of Metformin for Relieving Osteoarthritis. *ACS Applied Materials & Interfaces*, **15**, 16369-16379. <https://doi.org/10.1021/acsami.2c20496>
- [74] Zhou, Z., Cui, J., Wu, S., Geng, Z. and Su, J. (2022) Silk Fibroin-Based Biomaterials for Cartilage/Osteochondral Repair. *Theranostics*, **12**, 5103-5124. <https://doi.org/10.7150/thno.74548>
- [75] Farokhi, M., Aleemardani, M., Solouk, A., Mirzadeh, H., Teuschl, A.H. and Redl, H. (2021) Crosslinking Strategies for Silk Fibroin Hydrogels: Promising Biomedical Materials. *Biomedical Materials*, **16**, Article ID: 022004. <https://doi.org/10.1088/1748-605x/abb615>
- [76] Yang, C., Li, S., Huang, X., Chen, X., Shan, H., Chen, X., *et al.* (2022) Silk Fibroin Hydrogels Could Be Therapeutic Biomaterials for Neurological Diseases. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, **2022**, Article ID: 2076680. <https://doi.org/10.1155/2022/2076680>
- [77] Cao, Y. and Wang, B. (2009) Biodegradation of Silk Biomaterials. *International Journal of Molecular Sciences*, **10**, 1514-1524. <https://doi.org/10.3390/ijms10041514>
- [78] Sun, W., Gregory, D.A., Tomeh, M.A. and Zhao, X. (2021) Silk Fibroin as a Functional Biomaterial for Tissue Engineering. *International Journal of Molecular Sciences*, **22**, Article 1499. <https://doi.org/10.3390/ijms22031499>

- [79] Izadifar, Z., Chen, X. and Kulyk, W. (2012) Strategic Design and Fabrication of Engineered Scaffolds for Articular Cartilage Repair. *Journal of Functional Biomaterials*, **3**, 799-838. <https://doi.org/10.3390/jfb3040799>
- [80] van der Schot, G. and Bonvin, A.M.J.J. (2015) Performance of the WeNMR CS-Rosetta3 Web Server in CASD-NMR. *Journal of Biomolecular NMR*, **62**, 497-502. <https://doi.org/10.1007/s10858-015-9942-7>
- [81] Cui, X., Soliman, B.G., Alcalá-Orozco, C.R., Li, J., Vis, M.A.M., Santos, M., *et al.* (2020) Rapid Photocrosslinking of Silk Hydrogels with High Cell Density and Enhanced Shape Fidelity. *Advanced Healthcare Materials*, **9**, e1901667. <https://doi.org/10.1002/adhm.201901667>
- [82] Li, Q., Xu, S., Feng, Q., Dai, Q., Yao, L., Zhang, Y., *et al.* (2021) 3D Printed Silk-Gelatin Hydrogel Scaffold with Different Porous Structure and Cell Seeding Strategy for Cartilage Regeneration. *Bioactive Materials*, **6**, 3396-3410. <https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2021.03.013>
- [83] Xu, B., Ye, J., Yuan, F., Zhang, J., Chen, Y., Fan, B., *et al.* (2020) Advances of Stem Cell-Laden Hydrogels with Biomimetic Microenvironment for Osteochondral Repair. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, **8**, Article 247. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2020.00247>
- [84] Shen, C., Zhou, Z., Li, R., Yang, S., Zhou, D., Zhou, F., *et al.* (2025) Silk Fibroin-Based Hydrogels for Cartilage Organoids in Osteoarthritis Treatment. *Theranostics*, **15**, 560-584. <https://doi.org/10.7150/thno.103491>
- [85] Valenta, T., Degirmenci, B., Moor, A.E., Herr, P., Zimmerli, D., Moor, M.B., *et al.* (2016) Wnt Ligands Secreted by Subepithelial Mesenchymal Cells Are Essential for the Survival of Intestinal Stem Cells and Gut Homeostasis. *Cell Reports*, **15**, 911-918. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2016.03.088>
- [86] Fathi-Achachelouei, M., Keskin, D., Bat, E., Vrana, N.E. and Tezcaner, A. (2020) Dual Growth Factor Delivery Using PLGA Nanoparticles in Silk Fibroin/Pegdma Hydrogels for Articular Cartilage Tissue Engineering. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, **108**, 2041-2062. <https://doi.org/10.1002/jbm.b.34544>
- [87] Yuasa, M., Yamada, T., Taniyama, T., Masaoka, T., Xuetao, W., Yoshii, T., *et al.* (2015) Dexamethasone Enhances Osteogenic Differentiation of Bone Marrow- and Muscle-Derived Stromal Cells and Augments Ectopic Bone Formation Induced by Bone Morphogenetic Protein-2. *PLOS ONE*, **10**, e0116462. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0116462>
- [88] Khan, A.O., Rodriguez-Romera, A., Reyat, J.S., Olijnik, A., Colombo, M., Wang, G., *et al.* (2023) Human Bone Marrow Organoids for Disease Modeling, Discovery, and Validation of Therapeutic Targets in Hematologic Malignancies. *Cancer Discovery*, **13**, 364-385. <https://doi.org/10.1158/2159-8290.cd-22-0199>
- [89] Dai, K., Shen, T., Yu, Y., Deng, S., Mao, L., Wang, J., *et al.* (2020) Generation of rhBMP-2-Induced Juvenile Ossicles in Aged Mice. *Biomaterials*, **258**, Article ID: 120284. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2020.120284>
- [90] Hayes, A.J. and Melrose, J. (2020) Aggrecan, the Primary Weight-Bearing Cartilage Proteoglycan, Has Context-Dependent, Cell-Directive Properties in Embryonic Development and Neurogenesis: Aggrecan Glycan Side Chain Modifications Convey Interactive Biodiversity. *Biomolecules*, **10**, Article 1244. <https://doi.org/10.3390/biom10091244>
- [91] Zuliani, C.C., Bombini, M.F., de Andrade, K.C., Mamoni, R., Pereira, A.H. and Coimbra, I.B. (2018) Micromass Cultures Are Effective for Differentiation of Human Amniotic Fluid Stem Cells into Chondrocytes. *Clinics*, **73**, e268. <https://doi.org/10.6061/clinics/2018/e268>
- [92] Qiao, Z., Xin, M., Wang, L., Li, H., Wang, C., Wang, L., *et al.* (2020) Proteoglycan 4 Predicts Tribological Properties of Repaired Cartilage Tissue. *Theranostics*, **10**, 2538-2552. <https://doi.org/10.7150/thno.39386>
- [93] Alterio, J., Courtois, Y., Robelin, J., Bechet, D. and Martelly, I. (1990) Acidic and Basic Fibroblast Growth Factor mRNAs Are Expressed by Skeletal Muscle Satellite Cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **166**, 1205-1212. [https://doi.org/10.1016/0006-291x\(90\)90994-x](https://doi.org/10.1016/0006-291x(90)90994-x)
- [94] Jacob, G., Shimomura, K. and Nakamura, N. (2020) Osteochondral Injury, Management and Tissue Engineering Approaches. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, **8**, Article 580868. <https://doi.org/10.3389/fcell.2020.580868>
- [95] Ellman, M.B., An, H.S., Muddasani, P. and Im, H. (2008) Biological Impact of the Fibroblast Growth Factor Family on Articular Cartilage and Intervertebral Disc Homeostasis. *Gene*, **420**, 82-89. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2008.04.019>
- [96] Zhou, Q., Li, B., Zhao, J., Pan, W., Xu, J. and Chen, S. (2016) IGF-I Induces Adipose Derived Mesenchymal Cell Chondrogenic Differentiation *in Vitro* and Enhances Chondrogenesis *in Vivo*. *In Vitro Cellular & Developmental Biology - Animal*, **52**, 356-364. <https://doi.org/10.1007/s11626-015-9969-9>
- [97] Tam, W.L., Freitas Mendes, L., Chen, X., Lesage, R., Van Hoven, I., Leysen, E., *et al.* (2021) Human Pluripotent Stem Cell-Derived Cartilaginous Organoids Promote Scaffold-Free Healing of Critical Size Long Bone Defects. *Stem Cell Research & Therapy*, **12**, Article No. 513. <https://doi.org/10.1186/s13287-021-02580-7>
- [98] Zhu, J., Lun, W., Feng, Q., Cao, X. and Li, Q. (2023) Mesenchymal Stromal Cells Modulate YAP by Verteporfin to Mimic Cartilage Development and Construct Cartilage Organoids Based on Decellularized Matrix Scaffolds. *Journal of Materials Chemistry B*, **11**, 7442-7453. <https://doi.org/10.1039/d3tb01114c>
- [99] Abraham, D.M., Herman, C., Witek, L., Cronstein, B.N., Flores, R.L. and Coelho, P.G. (2022) 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>
- [100] Nilsson Hall, G., Mendes, L.F., Gklava, C., Geris, L., Luyten, F.P. and Papantoniou, I. (2020) Developmentally Engineered Callus Organoid Bioassemblies Exhibit Predictive *in Vivo* Long Bone Healing. *Advanced Science*, **7**, Article ID: 1902295. <https://doi.org/10.1002/adv.201902295>
- [101] Shi, Y., Bergs, C., Abdelbary, M.M.H., Pich, A. and Conrads, G. (2022) Isoeugenol-Functionalized Nanogels Inhibit Peri-Implantitis Associated Bacteria *in Vitro*. *Anaerobe*, **75**, Article ID: 102552. <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2022.102552>
- [102] Menssen, D.M.A., Feenstra, J.C.A., Janssen, R.P.A., Abinzano, F. and Ito, K. (2025) Cartilage Organoids from Articular Chondroprogenitor Cells and Their Potential to Produce Neo-Hyaline Cartilage. *Cartilage*. <https://doi.org/10.1177/19476035241313179>
- [103] Scheiman, J., Lubber, J.M., Chavkin, T.A., MacDonald, T., Tung, A., Pham, L., et al. (2019) Meta-Omics Analysis of Elite Athletes Identifies a Performance-Enhancing Microbe That Functions via Lactate Metabolism. *Nature Medicine*, **25**, 1104-1109. <https://doi.org/10.1038/s41591-019-0485-4>
- [104] Puschhof, J., Pleguezuelos-Manzano, C. and Clevers, H. (2021) Organoids and Organs-On-Chips: Insights into Human Gut-Microbe Interactions. *Cell Host & Microbe*, **29**, 867-878. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2021.04.002>
- [105] Özkan, A., LoGrande, N.T., Feitor, J.F., Goyal, G. and Ingber, D.E. (2024) Intestinal Organ Chips for Disease Modelling and Personalized Medicine. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, **21**, 751-773. <https://doi.org/10.1038/s41575-024-00968-3>
- [106] Jiang, W., Li, M., Chen, Z. and Leong, K.W. (2016) Cell-Laden Microfluidic Microgels for Tissue Regeneration. *Lab on a Chip*, **16**, 4482-4506. <https://doi.org/10.1039/c6lc01193d>
- [107] Licata, J.P., Schwab, K.H., Har-el, Y., Gerstenhaber, J.A. and Lelkes, P.I. (2023) Bioreactor Technologies for Enhanced Organoid Culture. *International Journal of Molecular Sciences*, **24**, Article 11427. <https://doi.org/10.3390/ijms241411427>
- [108] Phelan, M.A., Lelkes, P.I. and Swaroop, A. (2018) Mini and Customized Low-Cost Bioreactors for Optimized High-Throughput Generation of Tissue Organoids. *Stem Cell Investigation*, **5**, 33. <https://doi.org/10.21037/sci.2018.09.06>
- [109] 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>
- [110] D'Costa, K., Kopic, M., Lam, A., Moradipour, A., Zhao, Y. and Radisic, M. (2020) Biomaterials and Culture Systems for Development of Organoid and Organ-On-A-Chip Models. *Annals of Biomedical Engineering*, **48**, 2002-2027. <https://doi.org/10.1007/s10439-020-02498-w>
- [111] Shen, S., Chen, M., Guo, W., Li, H., Li, X., Huang, S., et al. (2019) Three Dimensional Printing-Based Strategies for Functional Cartilage Regeneration. *Tissue Engineering Part B: Reviews*, **25**, 187-201. <https://doi.org/10.1089/ten.teb.2018.0248>
- [112] Zhang, Y., Li, G., Wang, J., Zhou, F., Ren, X. and Su, J. (2024) Small Joint Organoids 3D Bioprinting: Construction Strategy and Application. *Small*, **20**, e2302506. <https://doi.org/10.1002/smll.202302506>
- [113] Wang, Z., Wang, L., Li, T., Liu, S., Guo, B., Huang, W., et al. (2021) 3D Bioprinting in Cardiac Tissue Engineering. *Theranostics*, **11**, 7948-7969. <https://doi.org/10.7150/thno.61621>
- [114] Cui, X., Breitenkamp, K., Finn, M.G., Lotz, M. and D'Lima, D.D. (2012) Direct Human Cartilage Repair Using Three-Dimensional Bioprinting Technology. *Tissue Engineering Part A*, **18**, 1304-1312. <https://doi.org/10.1089/ten.tea.2011.0543>
- [115] Chen, K., Jiang, E., Wei, X., Xia, Y., Wu, Z., Gong, Z., et al. (2021) The Acoustic Droplet Printing of Functional Tumor Microenvironments. *Lab on a Chip*, **21**, 1604-1612. <https://doi.org/10.1039/d1lc00003a>
- [116] Takagi, D., Lin, W., Matsumoto, T., Yaginuma, H., Hemmi, N., Hatada, S., et al. (2019) High-Precision Three-Dimensional Inkjet Technology for Live Cell Bioprinting. *International Journal of Bioprinting*, **5**, 208. <https://doi.org/10.18063/ijb.v5i2.208>
- [117] Sturm, F., Zieger, V., Koltay, P., Frejek, D. and Kartmann, S. (2024) Particle Detection in Free-Falling Nanoliter Droplets. *Micromachines*, **15**, Article 735. <https://doi.org/10.3390/mi15060735>
- [118] Liang, L., Li, Z., Yao, B., Enhe, J., Song, W., Zhang, C., et al. (2023) Extrusion Bioprinting of Cellular Aggregates Improves Mesenchymal Stem Cell Proliferation and Differentiation. *Biomaterials Advances*, **149**, Article ID: 213369. <https://doi.org/10.1016/j.bioadv.2023.213369>
- [119] Cui, X., Jiao, J., Yang, L., Wang, Y., Jiang, W., Yu, T., et al. (2024) Advanced Tumor Organoid Bioprinting Strategy for Oncology Research. *Materials Today Bio*, **28**, Article ID: 101198. <https://doi.org/10.1016/j.mtbio.2024.101198>

- [120] Xiong, R., Zhang, Z., Chai, W., Chrisey, D.B. and Huang, Y. (2017) Study of Gelatin as an Effective Energy Absorbing Layer for Laser Bioprinting. *Biofabrication*, **9**, Article ID: 024103. <https://doi.org/10.1088/1758-5090/aa74f2>
- [121] 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>
- [122] Quan, H., Zhang, T., Xu, H., Luo, S., Nie, J. and Zhu, X. (2020) Photo-Curing 3D Printing Technique and Its Challenges. *Bioactive Materials*, **5**, 110-115. <https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2019.12.003>
- [123] Hall, G.N., Tam, W.L., Andrikopoulos, K.S., Casas-Fraile, L., Voyiatzis, G.A., Geris, L., *et al.* (2021) Patterned, Organoid-Based Cartilaginous Implants Exhibit Zone Specific Functionality Forming Osteochondral-Like Tissues *in Vivo*. *Biomaterials*, **273**, Article ID: 120820. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2021.120820>
- [124] 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>
- [125] Rodríguez Ruiz, A., van Hoolwerff, M., Sprangers, S., Suchiman, E., Schoenmaker, T., Dibbets-Schneider, P., *et al.* (2022) Mutation in the CCAL1 Locus Accounts for Bidirectional Process of Human Subchondral Bone Turnover and Cartilage Mineralization. *Rheumatology*, **62**, 360-372. <https://doi.org/10.1093/rheumatology/keac232>
- [126] Sun, Y., You, Y., Wu, Q., Hu, R. and Dai, K. (2024) Senescence-Targeted MicroRNA/Organoid Composite Hydrogel Repair Cartilage Defect and Prevention Joint Degeneration via Improved Chondrocyte Homeostasis. *Bioactive Materials*, **39**, 427-442. <https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2024.05.036>
- [127] Zhong, L., Huang, X., Karperien, M. and Post, J. (2015) The Regulatory Role of Signaling Crosstalk in Hypertrophy of MSCs and Human Articular Chondrocytes. *International Journal of Molecular Sciences*, **16**, 19225-19247. <https://doi.org/10.3390/ijms160819225>
- [128] Xing, D., Liu, W., Li, J.J., Liu, L., Guo, A., Wang, B., *et al.* (2020) Engineering 3D Functional Tissue Constructs Using Self-Assembling Cell-Laden Microniches. *Acta Biomaterialia*, **114**, 170-182. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2020.07.058>
- [129] Phillips, R. (2023) Allogeneic iPSC-Derived Organoids Repair Articular Cartilage. *Nature Reviews Rheumatology*, **19**, 196-196. <https://doi.org/10.1038/s41584-023-00937-1>
- [130] Luo, Y., Li, M. and Xu, D. (2022) Biochemical Characterization of a Disease-Causing Human Osteoprotegerin Variant. *Scientific Reports*, **12**, Article No. 15279. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-19522-9>
- [131] Chen, Z.Y., *et al.* (2024) Transcriptome Sequencing-Based Study on the Mechanism of Action of Jintiang Capsules in Regulating Synovial Mesenchymal Stem Cells Exosomal miRNA and Articular Chondrocytes mRNA for the Treatment of Osteoarthritis. *Journal of Traditional Chinese Medicine*, **44**, 1153-1167.
- [132] Abe, K., Yamashita, A., Morioka, M., Horike, N., Takei, Y., Koyamatsu, S., *et al.* (2023) Engraftment of Allogeneic iPSC Cell-Derived Cartilage Organoid in a Primate Model of Articular Cartilage Defect. *Nature Communications*, **14**, Article No. 804. <https://doi.org/10.1038/s41467-023-36408-0>
- [133] Mizuno, S., Takada, E. and Fukai, N. (2016) Spheroidal Organoids Reproduce Characteristics of Longitudinal Depth Zones in Bovine Articular Cartilage. *Cells Tissues Organs*, **202**, 382-392. <https://doi.org/10.1159/000447532>