

## 皮肤类器官与皮肤芯片在药品及化妆品原料毒性测试中的应用进展

林 妮, 罗飞亚, 张凤兰, 周晓冰, 余振喜, 王钢力\*, 路 勇\*

中国食品药品检定研究院, 北京 100050

**摘要:** 随着药品及化妆品新原料和新剂型的不断出现, 亟需能够满足当代药品及化妆品新原料测试需求的新模型新方法。介绍了药品及化妆品原料毒性测试中的体外皮肤模型发展现状, 列举了皮肤类器官和皮肤芯片在药品、化妆品原料毒性测试中的应用实例, 并结合我国法规和监管现状对类器官与器官芯片模型的验证及标准化提出了建议, 最后对皮肤类器官和皮肤芯片作为原料毒性测试工具可能在监管决策中发挥的作用进行了展望, 以期为此类新型复杂体外模型的研发和应用提供建议。

**关键词:** 皮肤类器官; 皮肤芯片; 药品; 化妆品原料; 毒性测试; 安全监管

中图分类号: R965.3 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376 (2023) 10-2262-08

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2023.10.025

## Advances of application of skin organoids and skin-on-chips in toxicity testing of ingredients for drugs and cosmetics

LIN Ni, LUO Feiya, ZHANG Fenglan, ZHOU Xiaobing, YU Zhenxi, WANG Gangli, LU Yong

National Institutes for Food and Drug Control, Beijing 100050, China

**Abstract:** With the continuous emergence of new ingredients and dosage forms, novel models and methods are urgently needed to meet the requirements of assessing new ingredients of contemporary cosmetics and drugs. This review introduces the current status of *in vitro* skin models for toxicity testing of new ingredients of cosmetics and drugs, and then giving several examples of the application of skin organoids and skin-on-chips in toxicity testing of novel ingredients of cosmetics and drugs. The following section puts forward suggestions for validation and standardization of organoids and organ-on-chips based on the current regulations and supervision in China. Finally, the potential role of skin organoids and skin-on-chips as the toxicity testing tools of new ingredients in regulatory decision-making is prospected, with a view to providing suggestions for the development and application of such novel complex *in vitro* models.

**Key words:** skin organoids; skin-on-chips; drugs; cosmetic ingredients; toxicity testing; safety regulation

近年来,随着全球药品及化妆品行业的飞速发展,各种新技术、新方法不断涌现,药品及化妆品原料和剂型也在不断推陈出新,这些都给该类产品的测试和监管带来了更大的挑战。为了配合我国关于“两品一械”新法规的落地和实施,也为顺应全球药品化妆品行业发展趋势,更有效的药品及化妆品原料评价研究和监管工具的研发、验证和推广迫在眉睫。

毒性测试方法主要分为基于动物实验和非动

物实验的方法。过去的毒性测试多采用动物实验,造成了大量实验动物资源和测试成本的消耗。1959年,基于正确的科学实验设计应考虑到动物的权益、尽可能减少动物用量、优化完善实验程序或使用其他手段和材料替代动物实验,“3Rs(replacement、reduction、refinement)原则”正式提出<sup>[1]</sup>,即替代(用新技术和新方法替代部分动物实验)、减少(减少实验动物使用数量)、优化(改进和优化动物实验流程和实验动物感受)原则。

收稿日期: 2023-04-10

基金项目: 国家重点研发计划项目(2022YFF0711100);中国食品药品检定研究院中青年发展研究基金资助项目(2022C1)

第一作者: 林 妮,女,主管药师,研究方向为药品化妆品安全性评价。E-mail: nilin@nifdc.org.cn

\*共同通信作者: 王钢力,女,研究员,研究方向为化妆品质量控制与安全评价。E-mail: wanggl@nifdc.org.cn

路 勇,男,教授级高级工程师,研究方向为化妆品监管科学。E-mail: luyong@nifdc.org.cn

2003年,欧盟首先提出化妆品行业禁止动物实验;自2013年起,欧盟全面禁止化妆品动物实验和禁止销售经过动物实验的化妆品。出于动物福利和伦理的考虑,越来越多国家加入了禁止化妆品动物实验的队伍<sup>[2]</sup>。这些都极大地推动了用于化妆品测试替代试验模型的发展。

近年来,随着细胞生物学和组织工程学等技术的发展,出现了已被国内外权威科研或监管机构认可或亟待开展验证工作的不同类型三维(3D)重组人工皮肤模型,以及皮肤类器官和皮肤器官芯片(SoC)等新型复杂体外模型(CIVMs)<sup>[3]</sup>。本文将从药品及化妆品原料毒性测试体外模型的发展现状、皮肤类器官与药品及化妆品原料毒性测试、SoC与药品及化妆品原料毒性测试,以及CIVMs的验证与监管思考4个方面对皮肤类器官与SoC在药品及化妆品原料测试中的应用进展进行综述,并就如何对CIVMs进行科学的验证和有效的监管提出了建议,以期符合我国国情的药品、化妆品原料测试提供新的监管方法和技术支撑。

## 1 毒性测试体外皮肤模型的发展趋势和监管现状

随着国际上“3Rs原则”的广泛推行,越来越多的国家逐渐要求药品、化妆品及原料测试禁止使用实验动物,化妆品领域在研发过程中所倡导的“零残忍”理念在国内外逐渐深入人心。2022年12月23日,美国众议院通过了食品药品监督管理局(FDA)现代化法案2.0,改进药物审评审批程序,大幅减少在药物研发中对狗、灵长类等实验动物不必要的使用。因此很多体外替代模型,如模式生物(如斑马鱼、线虫)、动物或人源化细胞、离体的组织或器官(如作为屠宰废料的牛眼)、组织工程或生物工程技术模型[如人工重组表皮(RHE)模型]、理化试验以及计算毒理预测模型等,逐渐被国内外研发机构所接受,并在药品及化妆品的安全性和有效性测试时广泛使用<sup>[4]</sup>。

皮肤是人体最大的器官,主要分为3层,分别为表皮、真皮和皮下组织,其作为人体的屏障,直接与多种外界环境中的应激源接触,如太阳或电磁辐射,温湿度、微生物、化妆品、外用药物和机械应力等<sup>[5]</sup>。人工构建的3D皮肤模型是将人源皮肤细胞接种于特定的生物材料(如细胞培养水凝胶、插入式培养小室等)上进行培养,形成的具有多层立体结构的皮肤组织模型,尽可能地模拟人体皮肤的结构和功能,如皮肤代谢酶的代谢转化作用、正常人体皮肤组织的DNA修复和细胞周期控制功能等<sup>[6]</sup>,

因此该模型在毒性评价中具有重要价值。其中,RHE模型的研发逐渐成熟并商业化,现多被广泛应用于体外皮肤刺激性、腐蚀性、光毒性和遗传毒性筛选试验<sup>[7-9]</sup>。其中,法国的Episkin<sup>TM</sup>和SkinEthic<sup>TM</sup> RHE、德国的EpiCS、美国的EpiDerm、日本的LabCyte EPI-MODEL 24已通过实验室间联合验证并被经济合作与发展组织(OECD)认证所认可<sup>[8,10-11]</sup>。目前,RHE模型还被广泛应用于药品及化妆品透皮吸收试验,通过检测原料经皮吸收率,为评估其潜在局部皮肤毒性提供更多的毒理学信息<sup>[10,12-13]</sup>。

即使3D重组人工皮肤模型相比于二维(2D)细胞模型已经很大程度上提高了细胞的分化和功能特性,但与人体真实皮肤的高度分化程度和功能还存在差距。化妆品研发和监管机构现已普遍认可采用,例如针对整个体内毒性通路中不同毒性终点的多种体外试验“整合测试策略(IATA)”<sup>[14]</sup>,以提高体外替代试验测试的灵敏度、特异性和准确度,弥补单一体外试验的不足<sup>[15-16]</sup>。其中,3D重组人工皮肤模型也会作为某个或几个毒性终点的检测模型,例如在OECD 497皮肤致敏评价整合策略中,RHE模型可用于检测除T细胞激活以外的其他几个皮肤致敏过程的关键毒性反应<sup>[17-19]</sup>。

然而,现在的体外重组模型仍然存在缺陷,3D皮肤模型尚未包含毛囊、汗腺和皮脂腺等皮肤附属结构,且表皮细胞分化程度有限,皮肤屏障功能不足,导致测得的经皮吸收率高于真实人群使用情况;或缺乏皮肤血管及周围免疫微环境,难以完全重现人体皮肤的复杂性,受试物暴露于人工皮肤的情况与真实情况有偏差,导致实验结果无法准确评估受试物的安全性;又或者难以反映真实人体可能发生的局部接触暴露外源物后,不同组织器官间相互影响、局部毒性与潜在全身毒性的关系等。因此,开发更为复杂、更接近人体真实皮肤,且能够评价不同类型的药品、化妆品的体外模型是今后研发的趋势和重点。

## 2 皮肤类器官在原料毒性测试中的应用

### 2.1 皮肤类器官的构建、特性和技术优势

类器官是由具有干性潜能的干细胞在3D培养环境下进行诱导分化<sup>[20]</sup>,从而形成在结构和功能上都类似人体器官或组织的多细胞3D复合体。类器官拥有自我更新和自组装能力,并且高度分化,因此既能在体外长期培养,又能维持稳定的表型和遗传学特征,相对于2D细胞,更接近于体内状态,更

适合在体外进行特定靶器官的毒理学研究<sup>[20]</sup>。皮肤类器官通常使用气液界面(ALI)培养,即细胞顶层暴露于空气中,底层与液体培养基接触。这种培养方式有利于皮肤表皮细胞定向分化和增殖,比单层培养的角质细胞和成纤维细胞具有更好的抗氧化应激能力,能够分化形成与人体表皮高度相似的脂质成分,构成更为完善的皮肤屏障功能<sup>[21-22]</sup>。通过类器官体外分化自组装、适当的诱导、糖基化修饰和细胞重编程技术等,已经可以培养出简单的平面皮肤<sup>[23]</sup>。此外,一些皮肤附属物(如毛囊类器官)也在实验室被构建成功,3D毛囊细胞微球相较于单层培养毛囊乳头细胞,能够分泌细胞因子改善毛囊细胞生长微环境,从而促进 $\beta$ -连环蛋白( $\beta$ -catenin)和CD133等与毛囊细胞干性功能和毛囊再生密切相关的蛋白<sup>[24]</sup>。

陈润开等<sup>[25-26]</sup>采用CRISPR/dCas9系统上调内源性EDA基因重编程表皮角质细胞为汗腺样细胞,再以Matrigel为支架的3D培养环境下,体外诱导汗腺样细胞自组装形成汗腺类器官,使其不但具备汗腺原基的表型及结构特征,还能促进汗腺再生,实现创面修复。人诱导多能干细胞(hiPSC)来源的皮肤类器官可以形成3D细胞微球模型或组装体,适用于高通量的毒性测试或药效或化妆品功效评价。Ramovs等<sup>[27]</sup>构建了hiPSC来源的皮肤类器官,经过约130 d分化分化形成了毛发等人体皮肤结构和附属器,并重现了完整的滤泡间上皮细胞。该研究通过层黏连蛋白-332、IV型胶原、角蛋白-1、-5和-10和兜甲蛋白免疫荧光染色证明该皮肤类器官高度分化并表达多种与成人和胎儿皮肤组织切片相同的器官特异性蛋白标志物,从结构和功能上更接近人体皮肤,有潜力用于皮肤病理生理研究、药品和化妆品的毒性筛选。

人体皮肤结构复杂,目前大多数皮肤类器官只能构建表皮层和简单真皮层,虽然已有学者通过皮肤干细胞、支架材料在体外3D培养环境构建了组织工程全层皮肤,具有皮肤的屏障功能和简单的毛囊、汗腺等皮肤附属器<sup>[28]</sup>,但依然缺乏人体皮肤的血管和神经网络,以及免疫微环境等,因此在皮肤的免疫功能、与外界的物质和能量交换等方面与人体皮肤仍有较大差距。2022年,科研人员利用hiPSC诱导出包含完整皮肤组织结构的皮肤类器官,甚至分化形成了皮肤毛囊、皮脂腺和神经回路<sup>[29]</sup>。干细胞诱导培养60 d左右开始产生毛囊,达到130 d时,已经形成了分层的皮肤层、色素沉着的

毛囊、皮脂腺和感觉神经元等,与妊娠18周胎儿的皮肤组织的细胞组成和结构类似,皮肤类器官分化时程模拟了正常人类发育的时程。此外,还在皮肤类器官中观察到了脂肪细胞、感觉神经元、施万细胞和黑色素细胞,并能够在人类皮肤的适当空间组织中发育。在皮肤类器官分化的最后阶段,皮肤基底角质分化出了棘状、颗粒状和角质层<sup>[29]</sup>。

## 2.2 皮肤类器官的应用实例

全层皮肤类器官不仅可以应用于皮肤肿瘤研究、损伤修复等领域,在药品及化妆品原料测试中也有很好的应用。例如,纹身色素是刺入皮肤使用的半永久性色素,在中国不属于化妆品范畴,化妆品生产企业也不得把色素作为化妆品上市销售。但美国FDA规定纹身在美国属于化妆品范畴,因此意味着所使用的纹身墨水无需得到FDA批准也没有法规要求制造商列出纹身墨水的成分。但有研究表明许多纹身墨水中含有成分表上没有公布的化学物质,它们可能损害人类健康,而且属于疑似有害的纳米颗粒。若使用传统的2D细胞实验,只能检测可溶性成分的毒性。而用普通的重组表皮模型检测纹身色素会导致难以愈合的严重皮肤损伤,无法进行后续检测。利用全层皮肤类器官模型,将纹身色素直接加入真皮层中进行后续培养和检测,研究结果证明其中作为常见纹身色素的二氧化钛导致成纤维细胞活性降低和白细胞介素(IL)-8释放升高,而这一结果在2D皮肤细胞模型和重组表皮模型中未观察到,证明全层皮肤类器官模型在一些原料的毒理学试验中更具有敏感性<sup>[5]</sup>。在另一项重组人皮肤模型的研究中,对具有抗氧化和细胞保护功能的原料墨角藻黄素的皮肤刺激性进行了检测,根据OECD测试指南439检测受试物给予重组人皮肤组织后,通过检测组织活性、炎症因子(IL-1 $\alpha$ 、IL-6、IL-8)、表征内稳态蛋白[表皮生长因子受体(EGFR)、热休克蛋白(HSPB1)]和皮肤代谢酶[N-乙酰化转移酶1(NAT1)]等指标,证明0.5%浓度下墨角藻黄素未引起皮肤刺激性,且降低了乙醇的毒性,显示了一定程度的皮肤保护作用<sup>[30]</sup>。

此外,皮肤类器官用于毒性测试的另一个主要优势是可以进行高通量筛选。但纵使皮肤类器官的结构和功能分化程度已经很高,仍然缺乏真实的皮肤生长环境中的血管和神经网络,以及免疫微环境等,因此在进行毒理学试验时,结果仍与人体暴露于外源性毒素的反应有差距。此外,也无法反映局部毒性与潜在全身毒性的关联和相互影响。因

此,构建组织器官生长的微环境可以对体外模型进行进一步的优化。

### 3 皮肤芯片在原料毒性测试中的应用

#### 3.1 皮肤芯片的特点和技术优势

器官芯片(OoC)和类器官原本是两条独立发展的技术路线,类器官偏重生物学,利用细胞因子诱导成体干细胞自组装形成微组织器官;OoC则更偏向生物医学工程,即利用微流控技术控制微米尺度下的芯片中的流体流速,结合不同细胞或微组织间相互作用、细胞外基质特性以及生物化学和生物力学特性,在芯片上构建3D人体器官微生理系统(MPS)<sup>[31]</sup>。OoC能够提供剪切应力和循环拉伸等机械力,重现人体组织器官所处的真实生长环境,利用不同腔室内相互连通复制人体内的细胞-细胞、细胞-基质和细胞-环境之间相互影响,重现通过血管输送营养物质、废物清除、不同靶组织或器官间相互作用、血管和神经网络,以及参与众多重要生理病理过程的免疫微环境等<sup>[32]</sup>。

各种类型的单器官芯片,如肝<sup>[33]</sup>、肠<sup>[34]</sup>、脑<sup>[35]</sup>、皮肤<sup>[36]</sup>、肿瘤<sup>[37]</sup>等,以及不同组合的多器官芯片<sup>[38-39]</sup>的出现,为构建疾病模型<sup>[40]</sup>、药物毒性筛选<sup>[41]</sup>、肿瘤药效学筛选<sup>[42]</sup>、个体化医疗<sup>[43]</sup>、精准医疗<sup>[43]</sup>和再生医学<sup>[44]</sup>等领域提供了新的测试工具或应用模型<sup>[45]</sup>。近年来,OoC模型在化妆品领域的应用也引起了广泛关注,如应用皮肤芯片、毛囊类器官芯片等进行化妆品功效或毒性测试、药物毒性评价和药效学筛选等<sup>[46]</sup>。2022年6月,美国众议院通过《2022年食品和药品修正案》<sup>[47]</sup>,首次将OoC和MPS作为独立的药物非临床实验评估体系纳入法案,与细胞模型、计算机模型和动物模型等视为同等重要的研究手段。

#### 3.2 皮肤单器官芯片

皮肤芯片的构建可以通过将重组皮肤模型或皮肤类器官等直接置于芯片中培养,也可以先置于Transwell培养支架中再放入芯片的腔室中,这些方式都能实现皮肤组织的气-液界面培养,有利于皮肤组织的分化和功能的表达<sup>[48]</sup>。Kim等<sup>[49]</sup>利用Transwell支架构建全层皮肤组织的芯片,并采用3D生物打印技术将血管内皮细胞灌注于芯片内形成微血管通道,模拟人体内血管的功能。研究结果表明,生物打印墨水的人周细胞和形成的微血管通道可以促进皮肤表皮细胞的分化成熟。此外,该SoC模型还可以实现高通量、自动化和定制化,用于药品和化妆品的原料测试。

相较于3D重组皮肤模型和皮肤类器官模型,不同技术路径的SoC操作规程各异,且皮肤芯片用于体外毒性测试时,提高检测的通量通常是需要解决的关键技术问题之一。在另1项研究中,基于微流控芯片中对人类角质形成细胞进行诱导分化,构建了集成的表皮上(iEOC)芯片系统,该芯片系统可原位检测跨上皮电阻(TEER)值,用于评价系统及染毒后皮肤屏障完整性。通过ALI培养14 d后,SoC检测到与正常人体表皮相似的多种组织特异性蛋白表达,形成了基底层、棘层、颗粒层和角化层,TEER值可达 $3\text{ k}\Omega\cdot\text{cm}^2$ ,皮肤屏障功能致密、完整。此外,采用iEOC系统SoC模型对10种已知的毒性或非毒性的化合物进行了毒性筛选,结果与OECD的动物实验结果一致,并通过初步检测炎症细胞因子,可以预测不同程度的皮肤刺激反应,有望作为药品及化妆品原料体外皮肤刺激性筛选的替代方法<sup>[54]</sup>。

近年来,随着纳米科技的发展,纳米材料除了在药品和医疗器械等领域得到广泛应用,也逐渐成为化妆品行业的研发热点,如含有纳米原料或纳米技术的防晒霜和面霜等。由于纳米颗粒在纳米级尺寸下更容易穿透生物屏障,随着血流到达重要器官中蓄积,从而导致潜在的急性或蓄积毒性,因此其体内安全性需重点关注<sup>[55]</sup>。纳米材料表面活性高,容易发生团聚,而纳米颗粒的安全性受其粒径大小、形状、表面修饰和外界环境等多种因素影响,因此传统的体外静态2D细胞模型在对纳米材料进行毒性测试时存在不足。SoC可以提供流体剪切力,模拟人体皮肤组织细胞生长的真实微环境,使其在纳米材料的检测方面展现优势。且驱动芯片流体的微流控装置所需样本量少,降低了测试成本,更适用于不同条件下纳米材料的毒性筛选<sup>[56]</sup>。化妆品中的纳米材料可能在体表停留数小时,并暴露于空气、水分、光照和热量,以及人体皮肤汗液和皮脂中,而纳米材料也会表现出不同的物理、化学和生物学特性,导致毒性增强或降低,因此能够进行多参数毒性测试的模型更能满足纳米材料的安全性评价<sup>[57]</sup>。McCormick等<sup>[58]</sup>利用微流控技术和可透过紫外线(UV)的石英基底装置构建了可暴露于多种不同外部条件的多通道SoC,对单参数暴露(UV或纳米二氧化钛)和多参数暴露(UV和不同浓度的纳米二氧化钛)下人表皮细胞(HaCaT)的毒性反应,结果证明纳米二氧化钛对UV造成的HaCaT细胞毒性具有浓度相关的保护作用。

### 3.3 皮肤-肝脏双器官芯片

除了皮肤单器官芯片,还可以构建多器官级联系统对不同毒性靶器官细胞的相互作用影响进行研究。在1项使用皮肤-肝脏双器官芯片模型的研究中<sup>[50]</sup>,检测了染发剂4-氨基-2-羟基甲苯(AHT)的毒性和代谢特征。在不同染毒浓度(2.5、100  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ )下分别进行了经皮暴露(局部皮肤染毒)和全身暴露(经肝脏系统染毒)下的比较研究。结果证明,在2.5  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 染毒浓度下,AHT的主要代谢产物N-乙酰-AHT在局部皮肤所测得的血药峰浓度( $C_{\text{max}}$ )和曲线下面积(AUC)高于经肝脏的染毒方式下其代谢产物的 $C_{\text{max}}$ 和AUC,提示基于EpiDerm™的皮肤-肝脏芯片模型呈现了类似人体代谢的首关效应特征,而这也与AHT在施用于人体局部皮肤后,AHT代谢产物AHT-O-硫酸盐的 $C_{\text{max}}$ 和AUC的协同下降现象相一致。而100  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 染毒浓度下不同染毒形式之间比较,未出现显著差别,提示此浓度下首关效应达到饱和浓度。本研究结果显示利用皮肤-肝脏双器官芯片不仅可以重现不同器官间的级联反应、与人体内相似的复杂代谢特征(如首关效应),并对不同染毒浓度下的局部毒性和全身毒性和代谢特征进行比较研究。此外,研究人员构建的皮肤-肝脏芯片<sup>[51]</sup>和皮肤-毛发芯片<sup>[52]</sup>等,证明在至少14 d内可以维持组织细胞活性、代谢活性和内稳态<sup>[53]</sup>,可以应用于至少14 d重复染毒的毒性测试,例如药品化妆品的多次皮肤刺激实验和局部皮肤重复染毒的毒性实验等。

### 3.4 皮肤类器官芯片

目前研发成功的SoC有很多类型,针对不同测试或研发需求可选择不同类型的SoC。类器官芯片是近年研发的新热点,最初有学者认为器官芯片或微生理系统的材料本身并不适合类器官组织的诱导形成和后期维持培养,因此这一概念最初存在争议。随着类器官培养技术和生物工程技术的发展成熟,减少了对细胞组织培养基的高度依赖,提高了生物材料的组织相容性,构建真正意义上的类器官芯片模型逐步实现展现出更高的表型差异性,更适用于临床人体试验中的精准化和个体化需求<sup>[59-60]</sup>。

## 4 CIVMs的验证及标准化

随着类器官和微流控器官芯片研究的飞速发展,各种类型的类器官和器官芯片不断涌现,新模型研发相关论文在近10多年间数量激增。但对于此类CIVMs的研究,若只停留在科研层面,而不能

达到被监管机构接受和认可、成为药品、化妆品有效性和安全性监管决策的工具,则不能充分体现其研发的价值和意义。因此,建议结合我国药品及化妆品安全监管的法规要求,对模型构建和检测的操作技术实现标准化,开展实验室间验证等研究工作,并促进相关国家标准、技术指南和法规性文件的起草制定。例如,参考中国《化妆品安全评估技术导则》<sup>[61]</sup>、美国FDA预测毒理学路线图和EMA 3Rs中检测方法的监管标准及要求<sup>[62]</sup>,建议验证内容主要围绕以下4个部分进行。(1)提高预测准确性:选择经典的阳性或阴性验证物质,进行检测方法灵敏度、准确性和特异性检测;(2)试验结果剂量外推:确定未观察到有害作用水平(NOEL)、全身暴露量(SED)以及毒性靶器官等;(3)稳定性和可重复性;(4)适用范围和局限性:由于体外模型的特点,可能需要针对不同模型的验证结果和测试需求,进行其他替代方法的整合测试,以提高检测的灵敏度、准确性和特异性。

## 5 结语与展望

类器官与器官芯片是近年新兴技术和研究热点,新模型研发的相关论文在近10多年间数量激增,且作为体外药效、化妆品功效及药品、化妆品的毒性测试模型,已逐渐被国内外药品和化妆品监管机构所接受,并且有很多成功应用的实例。2022年,类器官和器官芯片技术迎来了发展的里程碑,美国FDA首次采纳了基于类器官芯片试验中获得的临床前药效数据,并结合已有的安全性数据,批准了赛诺菲1款药物新适应证的新药临床试验(IND)申请。2022年6月,美国众议院通过的《2022年食品和药品修正案》首次将器官芯片和微生理系统作为独立的药物非临床实验评估体系纳入法案。2021年,中国科技部将“基于类器官的恶性肿瘤疾病模型”列入“十四五”国家重点研发计划中首批重点专项。同年底,国家局药品审评中心发布的关于细胞治疗和基因治疗产品相关指导原则中,首次将类器官和微流体模型列入指导原则中。这些都标志着类器官和器官芯片用于生物技术药物的有效性和安全性评估已逐渐被国内外监管部门所接受。

虽然目前距离类器官、器官芯片和微生理系统临床前动物毒理学试验还有一段很长的路要走,但是至少在药品、化妆品安全性评价的思路和体系中,似乎更有希望率先成为数据链中重要的一环,或作为弥补临床前安全评价数据缺口的有力工具。

以化妆品安全监管为例,由于化妆品的原料是决定化妆品使用安全的重要因素,因此我国主要对化妆品原料的安全性进行监管。化妆品原料的安全性评价是以毒理学实验为基础,以暴露评估为导向的。对于毒理学实验,除了动物测试模型,也有条件地接受使用体外替代模型产生的数据。但由于目前任何一种单一替代模型不能完全替代在体实验,因此对于化妆品最常考察的局部毒性终点可以采取IATA等方法提高体外实验预测能力,或者通过具有相似结构原料的毒理学数据采用交叉参照的方法,以及引入毒理学关注阈值(TTC)等概念来进行原料安全性评价。而在暴露评估中,需要结合产品本身特性对人体的实际暴露量进行综合评估,例如需要计算化妆品或原料的透皮吸收率等、以及保守估算不同种属人群带来的不确定因子等。虽然通过这些方法能达到减少不必要的动物实验的目的,但在创新技术化妆品和新原料的安全性评估中,还存在大量的数据缺口。

因此,在当前药品及化妆品的新技术、新原料和新剂型不断推陈出新的形势下,迫切需要能满足新的测试和监管需求、更有效、并能实现一定通量的安全性评价体外替代模型。与此同时,推进类器官和器官芯片等CIVMs的验证及标准化,制定出台相关的测试指南、技术指导原则及规范性文件,才能更好地应对创新形势下带来的监管挑战,反映出我国药品化妆品监管标准的前瞻性和创新性。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

#### 参考文献

- [1] Caloni F, Nevelli F, Bonini L, et al. Replacement, reduction, refinement: 3 days for 3Rs [J]. ALTEX, 2022, 39(3): 519-521.
- [2] Adler S, Basketter D, Creton S, et al. Alternative (non-animal) methods for cosmetics testing: Current status and future prospects-2010 [J]. Arch Toxicol, 2011, 85(5): 367-485.
- [3] Almeida A, Sarmento B, Rodrigues F. Insights on *in vitro* models for safety and toxicity assessment of cosmetic ingredients [J]. Int J Pharm, 2017, 519(1/2): 178-185.
- [4] Pridgeon C S, Schlott C, Wong M W, et al. Innovative organotypic *in vitro* models for safety assessment: Aligning with regulatory requirements and understanding models of the heart, skin, and liver as paradigms [J]. Arch Toxicol, 2018, 92(2): 557-569.
- [5] Sutterby E, Thurgood P, Baratchi S, et al. Evaluation of *in vitro* human skin models for studying effects of external stressors and stimuli and developing treatment modalities [J]. View, 2022, doi: 10.1002/VIW.20210012.
- [6] Hu T, Khambatta Z S, Hayden P J, et al. Xenobiotic metabolism gene expression in the EpiDerm *in vitro* 3D human epidermis model compared to human skin [J]. Toxicol Vitro, 2010, 24(5): 1450-1463.
- [7] Chapman K E, Thomas A D, Wills J W, et al. Automation and validation of micronucleus detection in the 3D EpiDerm human reconstructed skin assay and correlation with 2D dose responses [J]. Mutagenesis, 2014, 29(3): 165-175.
- [8] 王曼虹, 黄芝瑛, 汪祺, 等. 三维重组皮肤模型在体外替代遗传毒性评价中的应用 [J]. 药物评价研究, 2020, 43(12): 2550-2556.  
Wang M H, Huang ZH Y, Wang Q, et al. Application of three dimensions reconstructed human epidermis in evaluation of *in vitro* alternative genotoxicity [J]. Drug Eval Res, 2020, 43(12): 2550-2556.
- [9] 邓晗依, 孙静秋, 肖萍, 等. 人重组皮肤模型评价手消毒剂产品皮肤刺激性的应用研究 [J]. 日用化学品科学, 2022, 45(3): 32-37.  
Deng H Y, Sun J Q, Xiao P, et al. Application of recombinant human skin model in evaluation of skin irritation of hand disinfectant products [J]. China Deterg Cosm, 2022, 45(3): 32-37.
- [10] 孔雪, 聂鹏举, 何文丹, 等. 三维重组人工皮肤模型在化妆品安全性评价中的应用[A]// 第十一届中国化妆品学术研讨会论文集 [C]. 上海: 中国香料香精化妆品工业协会, 2016.  
Kong X, Nie P J, He W D, et al. Application of three-dimensional recombinant artificial skin model in safety evaluation of cosmetics [A]// Proceedings of the 11th China Cosmetic Symposium [C]. Shanghai: China Association of Fragrance Flavour and Cosmetic Industries, 2016.
- [11] Nan L, Yanfeng L, Jie Q, et al. *In vitro* skin irritation assessment becomes a reality in China using a reconstructed human epidermis test method [J]. Toxicol Vitro, 2017, 41: 159-167.
- [12] Mohamed A A, Gopal P, Stuart H. Evaluation of 3D-human skin equivalents for assessment of human dermal absorption of some brominated flame retardants [J]. Environ Int, 2015, 84: 64-70.
- [13] Abd E, Yousuf S A, Pastore M N, et al. Skin models for the testing of transdermal drugs [J]. Clin Pharmacol: Adv Appl, 2016, 8: 163-176.
- [14] Grace P, Chanita K, Antonia K, et al. Towards AOP application — Implementation of an integrated approach to testing and assessment (IATA) into a pipeline tool for

- skin sensitization [J]. *Regul Toxicol Pharmacol*, 2014, 69 (3): 529-545.
- [15] Pauline M, Nathalie A, Els A, et al. Cosmetics Europe eye programme: Relevance to integrated approaches on testing and assessment for serious eye damage/eye irritation [J]. *Toxicol Lett*, 2017, 280: 155-156.
- [16] Canavez A D P M, de Oliveira P C G, Isaac V L B, et al. Integrated approaches to testing and assessment as a tool for the hazard assessment and risk characterization of cosmetic preservatives [J]. *J Applied Toxicol*, 2021, 41 (10): 1687-1699.
- [17] Nathalie A, Marie-Hélène G, Carine T, et al. An integrated testing strategy for *in vitro* skin corrosion and irritation assessment using SkinEthic™ reconstructed human epidermis [J]. *Toxicol Vitro*, 2015, 29(7): 1779-1792.
- [18] Nathalie A, Marie-Hélène G, José C. Usefulness of the EpiSkin™ reconstructed human epidermis model within integrated approaches on testing and assessment (IATA) for skin corrosion and irritation [J]. *Toxicol Vitro*, 2019, 54: 147-167.
- [19] Macmillan D S, Chilton M L, Gao Y, et al. How to resolve inconclusive predictions from defined approaches for skin sensitisation in OECD guideline No. 497 [J]. *Regul Toxicol Pharmacol*, 2022, 135: 105248.
- [20] Natalie D S. Organoids [J]. *Nat Meth*, 2018, 15(1): 23-23.
- [21] Bauer M, Metzger M, Corea M, et al. Novel 3D-printed cell culture inserts for air-liquid interface cell culture [J]. *Life*, 2022, 12(8): 1216.
- [22] Prunieras M, Regnier M, Woodley D. Methods for cultivation of keratinocytes with an air-liquid interface [J]. *J Invest Dermatol*, 1983, 81(1 Suppl): 28-33.
- [23] Elias M S, Wright S C, Nicholson W V, et al. Functional and proteomic analysis of a full thickness filaggrin-deficient skin organoid model [J]. *Wellc Open Res*, 2019, 4: 134.
- [24] Ji S, Zhu Z, Sun X, et al. Functional hair follicle regeneration: An updated review [J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2021, 6(1): 66.
- [25] 陈润开. 基于工程化汗腺类器官实现创面功能性修复的初步研究 [D]. 天津: 天津医科大学, 2020.  
Chen R K. Preliminary study on functional wound repair based on engineered sweat gland-like organs [D]. Tianjin: Tianjin Medical Sciences University, 2020.
- [26] 陈润开, 付小兵, 孙晓艳. 体外构建工程化汗腺类器官的初步研究 [J]. *解放军医学杂志*, 2020, 45(4): 384-390.  
Chen R K, Fu X B, Sun X Y. Preliminary study on the construction of engineered sweat gland organoids *in vitro* [J]. *Med J Chin People's Lib Army*, 2020, 45(4): 384-390.
- [27] Ramovs V, Janssen H, Fuentes I, et al. Characterization of the epidermal-dermal junction in hiPSC-derived skin organoids [J]. *Stem Cell Rep*, 2022, 17(6): 1279-1288.
- [28] Lee J, Koehler K R. Skin organoids: A new human model for developmental and translational research [J]. *Exp Dermatol*, 2021, 30(4): 613-620.
- [29] Lee J, van der Valk W H, Serdy S A, et al. Generation and characterization of hair-bearing skin organoids from human pluripotent stem cells [J]. *Nat Protoc*, 2022, 17(5): 1266-1305.
- [30] Spagolla N T R, Maria-Engler S S, Colepicolo P, et al. Skin irritation testing beyond tissue viability: Fucoxanthin effects on inflammation, homeostasis, and metabolism [J]. *Pharmaceutics*, 2020, 12(2): 136.
- [31] Santos A K, Scalzo S, de Souza R T V, et al. Strategic use of organoids and organs-on-chip as biomimetic tools [J]. *Semin Cell Devel Biol*, 2022, 144: 3-10.
- [32] Goldrick C, Guri I, Herrera O G, et al. 3D multicellular systems in disease modelling: From organoids to organ-on-chip [J]. *Front Cell Devel Biol*, 2023, 11: 1083175.
- [33] Colin H B, Amanda M C, Sarah W, et al. Liver 'organ on a chip'[J]. *Exp Cell Res*, 2018, 363(1): 15-25.
- [34] Nureddin A, Rohollah N, Natan R D B, et al. Gut-on-a-chip: Current progress and future opportunities [J]. *Biomaterials*, 2020, 255: 120196.
- [35] Isshiki Y, Kaneko T, Tamada A, et al. Co-culture of a brain organoid derived from human iPSCs and vasculature on a chip [A]// Proceedings of the IEEE International Conference on Micro Electro Mechanical Systems (MEMS) [C]. Vancouver B C: IEEE, 2020.
- [36] Cui M, Wiraja C, Zheng M, et al. Recent progress in skin-on-a-chip platforms [J]. *Adv Ther*, 2022, 5(1): 2100138.
- [37] Navid K, Mohammad R N, Hajar M, et al. Organ-tumor-on-a-chip for chemosensitivity assay: A critical review [J]. *Micromachines*, 2016, 7(8): 130.
- [38] Maschmeyer I, Lorenz A K, Schimek K, et al. A four-organ-chip for interconnected long-term co-culture of human intestine, liver, skin and kidney equivalents [J]. *Lab Chip*, 2015, 15(12): 2688-2699.
- [39] Satoh T, Sugiura S, Shin K, et al. A multi-throughput multi-organ-on-a-chip system on a plate formatted pneumatic pressure-driven medium circulation platform [J]. *Lab Chip*, 2018, 18(1): 115-125.
- [40] Tatsuya O, Vivek S, Roger D K. Vascularized microfluidic organ-chips for drug screening, disease models and tissue engineering [J]. *Curr Opin Biotechnol*, 2018, 52: 116-123.
- [41] Lin N, Zhou X, Geng X, et al. Repeated dose multi-drug testing using a microfluidic chip-based coculture of

- human liver and kidney proximal tubules equivalents [J]. Sci Rep, 2020, 10(1): 8879.
- [42] Del P N, Shirure V S, Bi Y, et al. Tumor-on-chip modeling of organ-specific cancer and metastasis [J]. Adv Drug Deliv Rev, 2021, 175: 113798.
- [43] Haque M R, Rempert T H, AlHilal T A, et al. Organ-chip models: Opportunities for precision medicine in pancreatic cancer [J]. Cancers, 2021, 13(17): 4487.
- [44] Liu Y, Pharr M, Salvatore G A. Lab-on-skin: A review of flexible and stretchable electronics for wearable health monitoring [J]. ACS Nano, 2017, 11(10): 9614-9635.
- [45] Mittal R, Woo F W, Castro C S, et al. Organ-on-chip models: Implications in drug discovery and clinical applications [J]. J Cell Physiol, 2019, 234(6): 8352-8380.
- [46] Risueño I, Valencia L, Jorcano J L, et al. Skin-on-a-chip models: General overview and future perspectives [J]. APL bioengineering, 2021, 5(3): 030901.
- [47] Li Z, Li J, Sun M, et al. Analysis of metabolites and metabolism-mediated biological activity assessment of ginsenosides on microfluidic co-culture system [J]. Front Pharmacol, 2023, 14: 1046722.
- [48] Gopu S, Massimo A, Yuri D, et al. Full-thickness human skin-on-chip with enhanced epidermal morphogenesis and barrier function [J]. Mater Today, 2018, 21(4): 326-340.
- [49] Kim B S, Gao G, Kim J Y, et al. 3D cell printing of perfusable vascularized human skin equivalent composed of epidermis, dermis, and hypodermis for better structural recapitulation of native skin [J]. Adv Health Mater, 2019, 8(7): e1801019.
- [50] Tao T P, Brandmair K, Gerlach S, et al. Demonstration of the first-pass metabolism in the skin of the hair dye, 4-amino-2-hydroxytoluene, using the Chip2 skin-liver microphysiological model [J]. J Appl Toxicol, 2021, 41(10): 1553-1567.
- [51] Tavares R, Tao T P, Maschmeyer I, et al. Toxicity of topically applied drugs beyond skin irritation: Static skin model vs. two organs-on-a-chip [J]. Int J Pharm, 2020, 589: 119788.
- [52] Atac B, Wagner I, Horland R, et al. Skin and hair on-a-chip: *In vitro* skin models versus *ex vivo* tissue maintenance with dynamic perfusion [J]. Lab Chip, 2013, 13(18): 3555-3561.
- [53] Wagner I, Materne E M, Brincker S, et al. A dynamic multi-organ-chip for long-term cultivation and substance testing proven by 3D human liver and skin tissue co-culture [J]. Lab Chip, 2013, 13(18): 3538-3547.
- [54] Zhang J, Chen Z, Zhang Y, et al. Construction of a high fidelity epidermis-on-a-chip for scalable *in vitro* irritation evaluation [J]. Lab Chip, 2021, 21(19): 3804-3818.
- [55] 黄芳华, 邵雪, 耿兴超, 等. «纳米药物非临床安全性评价研究技术指导原则»解读 [J]. 药学学报, 2023, 58(4): 1-22.
- Huang F H, Shao X, Geng X C H, et al. Interpretation of *technical guidelines for non-clinical safety evaluation of nanodrugs* [J]. Acta Pharm Sin B, 2023, 58(4): 1-22.
- [56] Mahto S K, Charwat V, Ertl P, et al. Microfluidic platforms for advanced risk assessments of nanomaterials [J]. Nanotoxicology, 2015, 9(3): 381-395.
- [57] Kim D, Lin Y S, Haynes C L. On-chip evaluation of shear stress effect on cytotoxicity of mesoporous silica nanoparticles [J]. Anal Chem, 2011, 83(22): 8377-8382.
- [58] McCormick S, Smith L E, Holmes A M, et al. Multiparameter toxicity screening on a chip: Effects of UV radiation and titanium dioxide nanoparticles on HaCaT cells [J]. Biomicrofluidics, 2019, 13(4): 44112.
- [59] Sokolowska P, Zuchowska A, Brzozka Z. Why can organoids improve current organ-on-chip platforms? [J]. Organoids, 2022, 1(1): 69-84.
- [60] Skardal A, Shupe T, Atala A. Organoid-on-a-chip and body-on-a-chip systems for drug screening and disease modeling [J]. Drug Discov Today, 2016, 21(9): 1399-1411.
- [61] 裴新荣, 孙磊, 邢书霞. «化妆品安全评估技术导则(2021年版)»解读 [J]. 环境卫生学杂志, 2021, 11(5): 442-446.
- Pei X R, Sun L, Xing S X. Interpretation of the *technical guidelines for cosmetics safety assessment (2021 Edition)* [J]. J Environ Hyg, 2021, 11(5): 442-446.
- [62] Marx U, Akabane T, Andersson T B, et al. Biology-inspired microphysiological systems to advance patient benefit and animal welfare in drug development [J]. ALTEX, 2020, 37(3): 365-394.

[责任编辑 李红珠]