

Organoid Culture Applications: Mini Systematic Review

Rilwan Efendi¹, Puti Khairunnajwa Amar¹, Resti Rahayu¹, Putra Santoso¹, Zozy Aneloi Noli¹, Rita Maliza^{1*}

¹Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Andalas, Padang, Indonesia;

Article History

Received : July 18th, 2023

Revised : August 11th, 2023

Accepted : September 11th, 2023

*Corresponding Author: **Rita Maliza**, Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Andalas, Padang, Indonesia; Email: ritamaliza@sci.unand.ac.id

Abstract: Recent scientific developments in the stem cell field have made it possible to create complex organoids, or structures that resemble complete organs, in vitro. In the majority of these methods, stem cells produced from stem cells or tissue progenitors are allowed to self-organize into three-dimensional (3D) structures using culture systems in three dimensions. The purpose of this study is to ascertain the use of organoid culture in the area of health. This kind of study employs the literature review methodology. The Preferred Reporting Items for Systematic Review and Meta-Analysis (PRISMA) criteria are referenced throughout the stages of the literature review performed in this study. The four processes that make up this level are identification, screening, eligibility, and acceptance. These discoveries showing that human stem cells and patient-derived pluripotent stem cells can be used to generate organoids open up a wide range of opportunities for modeling and disease development, toxicological research and medication discovery, and the field of regenerative medicine. Here, we discuss some of the most significant recent advancements in 3D human organoid production as well as the field's historical advancements. Finally, we discuss present restrictions and provide illustrations of how organoid technology may be used in the healthcare industry.

Keywords: Application, medicinal, organoid culture, stem cells.

Pendahuluan

Kultur organoid adalah suatu metode dalam bidang biologi yang melibatkan pembentukan dan pertumbuhan organoid di laboratorium. Organoid adalah struktur tiga dimensi yang menyerupai organ atau bagian dari organ yang ada dalam tubuh manusia. Organoid dapat berkembang dari sel-sel pluripoten atau sel-sel spesifik yang diisolasi dari organ aslinya.

Proses kultur organoid dimulai dengan mengisolasi sel-sel induk yang terkait dengan organ yang ingin diteliti. Sel-sel ini kemudian ditempatkan dalam kondisi yang mendukung pertumbuhan dan diferensiasi sel. Melalui manipulasi yang cermat, sel-sel ini dapat mengatur diri mereka sendiri dan membentuk struktur yang menyerupai organ yang asli. Kultur organoid memiliki beberapa keuntungan dibandingkan dengan metode

penelitian konvensional. Organoid dapat memberikan representasi yang lebih akurat dari kompleksitas organ asli, memungkinkan peneliti untuk mempelajari fungsi organ secara lebih baik.

Organoid dimulai dari dua jenis utama sel punca: (1) sel punca embrionik pluripoten (ESC) dan sel punca pluripoten terinduksi sintetik (iPS) dan (2) sel punca dewasa (aSCs) yang dibatasi organ. Sel punca dewasa yang lebih terbatas ini telah menunjukkan kemampuannya untuk tumbuh menjadi organoid in vitro, setelah tertanam dalam matriks ekstraseluler yang tepat dan dilengkapi dengan petunjuk molekuler yang benar. Sejak ditemukannya, para ilmuwan telah menerapkan pengetahuan biologi perkembangan untuk mendapatkan tipe sel yang berbeda dari sel punca ini.

Yoshiki Sasai dan rekan-rekannya adalah orang pertama yang mengambil satu

langkah lebih jauh dengan menanyakan apakah sistem *in vitro* tersebut mampu merekapitulasi beberapa sistem regulasi organogenesis yang kuat tidak hanya dalam hal diferensiasi sel, tetapi juga pola spasial dan morfogenesis. Untuk sel ESC dan iPS, di sini secara kolektif disebut sel induk berpotensi majemuk atau PSC, potensi ini telah menjadi prasyarat penting untuk penemuannya. Puncak karirnya, mereka mengembangkan metode untuk menghasilkan struktur otak, retina, dan hipofisis dalam sebuah piringan atau dish (Clevers, 2016; Artegiani & Clevers, 2018).

Dua jenis organoid banyak digunakan, berasal dari sel punca pluripoten (PSC) atau sel punca dewasa (ASC). Organoid dapat digunakan untuk penelitian dasar, biobanking, pemodelan penyakit, dan pengobatan presisi untuk memprediksi repon obat dan sumber daya pengobatan regenerative (Kim *et al.*, 2020). Berdasarkan uraian diatas, maka penelitian berbasis literatur review ini bertujuan untuk memaparkan penggunaan atau aplikasi kultur organoid dibidang kesehatan.

Bahan dan Metode

Jenis penelitian

Penelitian ini merupakan artikel review yang dilakukan dengan cara mengumpulkan jurnal-jurnal terkait kemudian dirangkum dan disajikan dalam bentuk kesimpulan-kesimpulan dari hasil beberapa jurnal yang dirangkum didalamnya.

Prosedur penelitian

Pengumpulan referensi pada penelitian ini merujuk pada panduan *Preferred Reporting Items for Systematic Review and Meta-Analysis* (PRISMA). Panduan dijelaskan empat prosedur yaitu, identifikasi, skrining, eligibility, dan included. Tahap identifikasi, dilakukan pencarian sumber-sumber artikel dan literatur terkait di internet. Selanjutnya, tahap skrining, dilakukan pengecekan terhadap artikel yang dikumpulkan. Pengecekan dilakukan dengan menyesuaikan judul dan abstrak artikel dengan judul penelitian. Artikel yang layak (*eligibility*) merupakan artikel yang relevan dengan masalah dan tujuan penelitian pada literatur review.

Kemudian, pada tahap penerimaan (*included*), dilakukan uji secara inklusi dan eksklusi, artikel yang memenuhi kriteria akan dijadikan sumber literatur, sedangkan yang tidak memenuhi syarat maka akan dikeluarkan.

Strategi pencarian data

Pencarian artikel yang sesuai pada penelitian menggunakan kata kunci yang relevan dengan masalah dan tujuan penelitian. Data diperoleh dari jurnal nasional, internasional, textbook, artikel ilmiah, dan laporan penelitian. Pencarian artikel dilakukan dengan search engine Google, Google Scholar, PubMed maupun Scencedirect dengan kata kunci “Organoid” dan “Stem Cell”. Basis data yang dicari mencakup artikel yang dipublikasikan dari tahun 2013-2023.

Kriteria inklusi

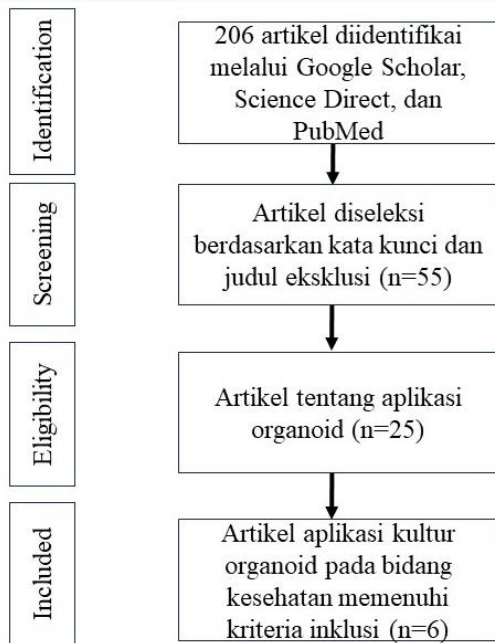
Penetapan kriteria inklusi yaitu, penelitian dilakukan pada kultur organoid dan aplikasinya dibidang kesehatan, penelitian menggunakan organoid untuk pengobatan penyakit pada manusia, artikel ditulis dalam Bahasa Indonesia atau Inggris, artikel *original research* atau bukan literature review, dan penelitian dipublikasikan setelah tahun 2013 atau pada rentang 10 tahun terakhir.

Studi yang digunakan

Sumber studi dari literature review yang digunakan pada penelitian ini berupa data base yang memenuhi kriteria inklusi dan layak yang berasal dari 6 referensi dari 25 sumber artikel yang relevan dan merupakan hasil skrining dari total 206 referensi termasuk kriteria eksklusi.

Hasil dan Pembahasan

Pencarian artikel dilakukan dengan mengunjungi website jurnal terkait, dan didapatkan 206 referensi yang sesuai. Selanjutnya, judul dan abstrak diidentifikasi, sehingga sebanyak 181 artikel dikeluarkan dari artikel rujukan, dan didapatkan 25 artikel yang relevan. Kemudian, 25 artikel yang relevan dibaca dan dipahami isi dan pembahasannya, sehingga didapatkan hanya 6 artikel yang memenuhi kelayakan dan kesesuaian. Tahapan penyeleksian artikel yang dipilih, dapat dilihat pada gambar 1.



Gambar 1. Diagram PRISMA dalam pemilihan artikel

Artikel yang memenuhi persyaratan inklusi dan eksklusi merupakan artikel penelitian atau bukan literature review, didapatkan berbagai aplikasi kultur organoid dibidang kesehatan khususnya pada pengobatan penyakit manusia. Adapun deskripsi data dari hasil studi yang disertakan dapat dilihat pada tabel 1.

Perkembangan kultur organoid

Perkembangan dan kemajuan model organoid sejak dimulainya pada tahun 2009 oleh Sato *et al.* Model awal mengalami beberapa kelemahan, terutama kekurangan intrinsik dari beberapa struktur yang membentuk jaringan fisiologis kompleks dari organ/jaringan yang dipelajari seperti stroma, pembuluh darah, persarafan saraf dan sel imun, dan pada tipe organoid tertentu seperti organoid usus, komponen mikroba alami. Karena kurangnya kompartemen stroma dan vaskular dalam model organoid klasik, ada difusi nutrisi yang terbatas di dalam struktur. Akibatnya, ada batas atas ukuran organoid yang dinyatakan sekitar 1,4 mm sebagaimana ditentukan oleh pemodelan matematika (Akkerman, 2017).

Hati asli adalah organ yang sangat kompleks dengan jaringan vaskularisasi yang kaya dan memengaruhi berbagai proses metabolisme. Untuk pemodelan PLC organoid klasik umumnya hanya terdiri dari satu jenis

sel, yang biasanya adalah sel epitel. Model ini tidak memiliki representasi multiseluler dari lingkungan mikro tumor (TME). Kelemahan lainnya adalah tidak adanya sel imun di dalam tumor organoids *in vitro* ada pengurangan komponen ini setelah 14-21 hari dalam kultur. Dimasukkannya berbagai jenis sel (seperti fibroblas dan sel imun) bersama dengan tumor yang berasal dari pasien dapat mengatasi kekurangan ini dalam apa yang disebut 'co-cultures organoid' (Neal, 2018).

Fibroblas telah terbukti meningkatkan pertumbuhan tumor, metastasis, serta kemoresistensi (Zhang, 2018), sedangkan sel imun sangat penting untuk TME (Dijkstra, 2018). Kehadiran jenis sel lain dan perancah ekstraseluler mengatasi kelangsungan hidup sel kekebalan yang terbatas di dalam *in vitro* berdasarkan pensinyalan parakrin dari jalur kelangsungan hidup dan proliferasi. Perlu dicatat bahwa dalam pembuatan kultur bersama organoid, hanya penanaman bersama sel tumor dan sel stroma, terutama yang berasal dari tumor padat mungkin tidak cukup dalam menghasilkan organoid dengan sel stroma yang tergabung.

Oleh karena itu, pra-perawatan tumor dan sel stroma (Seino, 2018) dan/atau perangkat khusus (Silvestri, 2020) diperlukan untuk menghasilkan kultur bersama dengan lebih banyak karakteristik fisiologis. Sebagai contoh, dalam generasi organoid hati yang divaskularisasi, sel punca pluripoten yang diinduksi (iPSCs) yang berasal dari sel mirip hepatosit dengan sel endotel dalam perangkat mikofluida telah berhasil dikembangkan (Jin, 2018). Organoids vaskularisasi ini menunjukkan peningkatan fungsi spesifik hepatosit, yaitu sekresi albumin, aktivitas metabolisme obat, dan respons obat.

Jenis - jenis kultur organoid

Perkembangan ilmu pengetahuan memungkinkan kita untuk mempelajari dan menciptakan jaringan baru dengan kultur organoid, hal tersebut terbukti bahwa kultur organoid mampu membentuk organ baru seperti pada tabel 1. Tabel berikut ditampilkan organoid dan media sumber yang digunakan pada kultur organoid, serta faktor pertumbuhan yang sesuai untuk menunjang pertumbuhan sel. Selain itu, organ yang digunakan hanya dapat berfungsi dalam pengobatan penyakit spesifik.

Tabel 1. Jenis-jenis kultur organoid beserta sumbernya, media dan faktor pertumbuhan yang digunakan, serta fungsinya

Referensi	Organ dan sumber	Media	Faktor Pertumbuhan	Fungsi
Watson <i>et al.</i> , (2014)	Usus (miPSCs)	with Matrigel (BD Biosciences) dan media mTESR1	Act A, Chir, FGF, Noggin dan EGF	Transplantasi Teraupetik
McCracken <i>et al.</i> , (2014)	Lambung (hGOs)	Matrigel (BD Biosciences) in mTesR1 media (StemCell Technologies).	Activin A, RA, WNT3A, CHIR99021, FGF4, EGF and NOG	Penyakit lambung, termasuk penyakit tukak lambung dan kanker lambung
Takebe <i>et al.</i> , (2013)	Hati (hPSCs)	Matrigel dan EGM	FGF2, BMP4, FBS, HGF, EGF	Transplantasi Hati
Takasato <i>et al.</i> , (2014)	Ginjal (hESCs)	Matrigel	DMEM, KnockOut serum, MEM NEAA, 2-mercaptoethanol, penicillin, Glutamax dan bFGF	Penyakit Ginjal Stadium Akhir
Jo <i>et al.</i> , (2016)	Otak (hPSCs)	Matriks gel (BD Biosciences) with mTeSR1 (StemCell Technologies, Inc.)	ROCK inhibitor Y27632, SHH-C25II, FGF8, SHH-C25II, BDNF, GDNF, ascorbic acid dan db-cAMP.	Penyakit Parkinson
Assawachananont <i>et al.</i> , (2014)	Retina mata (mESCs and miPSCs)	Matrigel	G-MEM, KSR, amino acids, pyruvate, 2-mercaptoethanol	Penyakit Retinitis pigmentosa

Media dan faktor pertumbuhan

Organoid membutuhkan nutrisi dan faktor pertumbuhan selama kultur berlangsung, masing masing kultur dengan organ yang berbeda juga membutuhkan faktor pertumbuhan yang berbeda pula, beberapa faktor pertumbuhan yang dibutuhkan untuk melakukan kultur organoid (Tabel 1). Berbagai penelitian organoid telah menemukan bahwa faktor pertumbuhan hepatosit (HGF), faktor pertumbuhan epitel (EGF), faktor pertumbuhan fibroblast (FGF) dan R-spondin-1 (Rspo1), agonis Wnt, ligan dari LGR5 (Takebe *et al.*, 2013), dibutuhkan untuk perkembangan organoid hati, dan terdapat perbedaan pada faktor pertumbuhan organoid lambung (McCracken *et al.*, 2014), begitu juga dengan kultur organoid lainnya.

Fungsi kultur organoid dibidang kesehatan

Kultur Organoid yang berasal dari iPSC dianggap sebagai landasan utama dalam bidang pemodelan penyakit berbasis organoid. hal ini dapat dilihat dari banyaknya penyakit yang dapat diatasi dengan adanya kultur organoid,

beberapa fungsi kultur organoid dalam bidang kesehatan (Tabel 1). Publikasi terbaru telah menunjukkan generasi sukses dari organoid turunan iPSC yang divaskularisasi. Satu studi khususnya telah berhasil memasukkan komponen stroma seperti pembuluh darah, fibroblas dan sel imun menggunakan sel progenitor mesodermal yang diinduksi dari sel iPSC (Wörsdörfer *et al.*, 2019).

Organoid turunan iPSC di sisi lain memiliki keuntungan menghilangkan kebutuhan untuk bergantung pada reseksi jaringan primer. Setelah garis sel iPSC dibuat dari seorang pasien, sel dapat digunakan untuk berulang kali menghasilkan beberapa jenis sel tanpa batas (Takebe *et al.*, 2014). Yang penting, organoid turunan iPSC dapat merekapitulasi heterogenitas tumor dengan cara yang sama seperti organoid konvensional. Selain itu, organoid turunan iPSC telah terbukti menjadi platform yang andal untuk mempelajari hubungan mekanistik mutasi onkogenik dengan pengembangan HCC karena banyak penelitian telah memperkenalkan berbagai mutasi onkogenik yang diketahui

dalam model kanker turunan iPSC melalui teknologi CRISPR-Cas9 (Schwank *et al.*, 2013).

Keuntungan lain yang menarik dari kultur organoid adalah bahwa mereka dapat memungkinkan studi tentang hubungan inang-patogen secara *in vitro*. Misalnya, penelitian terbaru telah menerapkan organoid hati untuk mempelajari interaksi inang-HBV/HCV (Olgasi *et al.*, 2020). Sebagai sistem pemodelan yang relevan secara fisiologis, organoid turunan iPSC yang divaskularisasi memiliki banyak aplikasi dalam penelitian kanker.

Organoid adalah platform pemodelan yang sangat berharga untuk mempelajari jalur pensinyalan kunci dan proses metabolisme yang sering terjadi dalam kanker, karena sifat organoid sebagai organ yang aktif secara metabolik dengan banyak pembuluh. Mengingat aplikasi potensial model organoid dalam studi kanker dan penelitian klinis, kemungkinan organoid yang diturunkan dari iPSC akan membuka jalan bagi pengembangan pengobatan regeneratif dan personalisasi. Organoid turunan iPSC juga menunjukkan potensi sebagai kendaraan untuk meregenerasi organ yang sakit melalui transplantasi organoid. Sebagai contoh, kuncup hati organoid vaskular telah terbukti cocok sebagai transplantasi organoid untuk pasien yang memiliki penyakit hati stadium akhir (Khetani, 2021).

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian pada jurnal-jurnal penelitian yang telah dilakukan, aplikasi kultur organoid dan fungsinya dibidang kesehatan meliputi, transplantasi terapeutik, pengobatan penyakit lambung, ginjal dan kanker, transplantasi organ seperti hati, penyakit regeneratif seperti parkinson, serta penyakit retinitis. Di masa depan, mungkin menjadi persyaratan bagi setiap orang untuk memiliki jaringan organoid yang disimpan dalam biobank skala besar untuk memfasilitasi sistem perawatan berbasis pasien yang terstruktur, merevolusi pendekatan fundamental dan dasar pengobatan yang dipersonalisasi. Sehingga dengan adanya kultur organoid dapat mengatasi berbagai macam penyakit yang mempengaruhi organ tubuh manusia.

Ucapan Terima Kasih

Terima kasih kepada pihak-pihak yang terlibat didalam penulisan artikel review ini, baik dalam baik secara moral maupun material.

Referensi

- Akkerman, N., & Defize, L. H. (2017). Dawn of the organoid era: 3D tissue and organ cultures revolutionize the study of development, disease, and regeneration. *Bioessays*, 39(4), 1600244. DOI: 10.1002/bies.201600244.
- Artegiani B., and Clevers H. (2018). Use and application of 3D-organoid technology. *Human Molecular Genetics*, 27(R2): 99-107. DOI: 10.1093/hmg/ddy187
- Assawachananont, J., Mandai, M., Okamoto, S., Yamada, C., Eiraku, M., Yonemura, S., ... & Takahashi, M. (2014). Transplantation of embryonic and induced pluripotent stem cell-derived 3D retinal sheets into retinal degenerative mice. *Stem cell reports*, 2(5), 662-674. DOI: 10.1016/j.stemcr.2014.03.011
- Bershteyn, M., Nowakowski, T. J., Pollen, A. A., Di Lullo, E., Nene, A., Wynshaw-Boris, A., & Kriegstein, A. R. (2017). Human iPSC-derived cerebral organoids model cellular features of lissencephaly and reveal prolonged mitosis of outer radial glia. *Cell stem cell*, 20(4), 435-449. DOI: 10.1016/j.stem.2016.12.007
- Bredenoord, A. L., Clevers, H., & Knoblich, J. A. (2017). Human tissues in a dish: the research and ethical implications of organoid technology. *Science*, 355(6322), eaaf9414. DOI: 10.1126/science.aaf9414
- Clevers, Hans. (2016). Modeling Development and Disease with Organoids. *Cell*, 165(7): 1586-1597. DOI: 10.1016/j.cell.2016.05.082
- Dekkers, J. F., Wiegerinck, C. L., De Jonge, H. R., Bronsveld, I., Janssens, H. M., De Winter-de Groot, K. M., ... & Beekman, J. M. (2013). A functional CFTR assay using primary cystic fibrosis intestinal organoids. *Nature medicine*, 19(7), 939-945. DOI: 10.1038/nm.3201
- Dijkstra, K. K., Cattaneo, C. M., Weeber, F., Chalabi, M., van de Haar, J., Fanchi, L. F.,

- ... & Voest, E. E. (2018). Generation of tumor-reactive T cells by co-culture of peripheral blood lymphocytes and tumor organoids. *Cell*, 174(6), 1586-1598. doi: 10.1016/j.cell.2018.07.009
- Huch M, Dorrell C, Boj SF, van Es JH, Li VS, van de Wetering M, Sato T, Hamer K, Sasaki N, Finegold MJ, Haft A, Vries RG, Grompe M, Clevers H. (2013). In vitro expansion of single Lgr5+ liver stem cells induced by Wnt-driven regeneration. *Nature*, 494:247–250. DOI: 10.1038/nature11826
- Huch M, Gehart H, van Boxtel R, Hamer K, Blokzijl F, Verstegen MM, Ellis E, van Wenum M, Fuchs SA, de Ligt J, van de Wetering M, Sasaki N, Boers SJ, Kemperman H, de Jonge J, Ijzermans JN, Nieuwenhuis EE, Hoekstra R, Strom S, Vries RR, van der Laan LJ, Cuppen E, Clevers H. (2015). Long-term culture of genome-stable bipotent stem cells from adult human liver. *Cell*, 160(1-2):299–312. DOI: 10.1016/j.cell.2014.11.050
- Jin, Y., Kim, J., Lee, J. S., Min, S., Kim, S., Ahn, D. H., ... & Cho, S. W. (2018). Drug Screening: Vascularized Liver Organoids Generated Using Induced Hepatic Tissue and Dynamic Liver-Specific Microenvironment as a Drug Testing Platform (Adv. Funct. Mater. 37/2018). *Advanced Functional Materials*, 28(37), 1870266. DOI: 10.1002/adfm.201801954
- Jo, J., Xiao, Y., Sun, A. X., Cukuroglu, E., Tran, H. D., Göke, J., ... & Ng, H. H. (2016). Midbrain-like organoids from human pluripotent stem cells contain functional dopaminergic and neuromelanin-producing neurons. *Cell stem cell*, 19(2), 248-257. DOI: 10.1016/j.stem.2016.07.005
- Khetani, S. R. (2021). Pluripotent stem cell-derived human liver organoids enter the realm of high-throughput drug screening. *Gastroenterology*, 160(3), 653-655. DOI: 10.1053/j.gastro.2020.12.005
- Kim J., Koo B.k., & Knoblich J.A. (2020). Human organoids: model systems for human biology and medicine. *Nature Molecular Cell Biology*, 21: 571-584. DOI: 10.1038/s41580-020-0259-3
- McCracken, K. W., Catá, E. M., Crawford, C. M., Sinagoga, K. L., Schumacher, M., Rockich, B. E., ... & Wells, J. M. (2014). Modelling human development and disease in pluripotent stem-cell-derived gastric organoids. *Nature*, 516(7531), 400-404. DOI: 10.1038/nature13863
- Neal, J. T., Li, X., Zhu, J., Giangarra, V., Grzeskowiak, C. L., Ju, J., ... & Kuo, C. J. (2018). Organoid modeling of the tumor immune microenvironment. *Cell*, 175(7), 1972-1988. DOI: 10.1016/j.cell.2018.11.021
- Olgasi, C., Cucci, A., & Follenzi, A. (2020). iPSC-derived liver organoids: a journey from drug screening, to disease modeling, arriving to regenerative medicine. *International journal of molecular sciences*, 21(17), 6215. DOI: 10.3390/ijms21176215
- Schwank, G., Koo, B. K., Sasselli, V., Dekkers, J. F., Heo, I., Demircan, T., ... & Clevers, H. (2013). Functional repair of CFTR by CRISPR/Cas9 in intestinal stem cell organoids of cystic fibrosis patients. *Cell stem cell*, 13(6), 653-658. DOI: 10.1016/j.stem.2013.11.002
- Seino, T., Kawasaki, S., Shimokawa, M., Tamagawa, H., Toshimitsu, K., Fujii, M., ... & Sato, T. (2018). Human pancreatic tumor organoids reveal loss of stem cell niche factor dependence during disease progression. *Cell stem cell*, 22(3), 454-467. DOI: 10.1016/j.stem.2017.12.009
- Silvestri, V. L., Henriët, E., Linville, R. M., Wong, A. D., Searson, P. C., & Ewald, A. J. (2020). A Tissue-Engineered 3D Microvessel Model Reveals the Dynamics of Mosaic Vessel Formation in Breast Cancer Dynamics of Tumor–Vessel Interactions in a 3D Vessel Model. *Cancer Research*, 80(19), 4288-4301. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-19-1564
- Takasato, M., Er, P. X., Becroft, M., Vanslambrouck, J. M., Stanley, E. G., Elefanty, A. G., & Little, M. H. (2014). Directing human embryonic stem cell differentiation towards a renal lineage generates a self-organizing kidney. *Nature cell biology*, 16(1), 118-126. DOI: 10.1038/ncb2894
- Takebe, T., Sekine, K., Enomura, M., Koike, H., Kimura, M., Ogaeri, T., ... & Taniguchi, H. (2013). Vascularized and functional

- human liver from an iPSC-derived organ bud transplant. *Nature*, 499(7459), 481-484. DOI: 10.1038/nature12271
- Takebe, T., Zhang, R. R., Koike, H., Kimura, M., Yoshizawa, E., Enomura, M., ... & Taniguchi, H. (2014). Generation of a vascularized and functional human liver from an iPSC-derived organ bud transplant. *Nature protocols*, 9(2), 396-409. DOI: 10.1038/nprot.2014.020
- Turner, D. A., Girgin, M., Alonso-Crisostomo, L., Trivedi, V., Baillie-Johnson, P., Glodowski, C. R., ... & Arias, A. M. (2017). Anteroposterior polarity and elongation in the absence of extra-embryonic tissues and of spatially localised signalling in gastruloids: mammalian embryonic organoids. *Development*, 144(21), 3894-3906. DOI: 10.1242/dev.150391
- Watson, C. L., Mahe, M. M., Múnera, J., Howell, J. C., Sundaram, N., Poling, H. M., ... & Helmrath, M. A. (2014). An in vivo model of human small intestine using pluripotent stem cells. *Nature medicine*, 20(11), 1310-1314. DOI: 10.1038/nm.3737
- Wells, J. M., & Spence, J. R. (2014). How to make an intestine. *Development*, 141(4), 752-760. DOI: 10.1242/dev.097386
- Wörsdörfer, P., Dalda, N., Kern, A., Krüger, S., Wagner, N., Kwok, C. K., ... & Ergün, S. (2019). Generation of complex human organoid models including vascular networks by incorporation of mesodermal progenitor cells. *Scientific reports*, 9(1), 1-13. DOI: 10.1038/s41598-019-52204-7
- Zhang, D., Li, L., Jiang, H., Li, Q., Wang-Gillam, A., Yu, J., ... & Lim, K. H. (2018). Tumor–Stroma IL1 β -IRAK4 Feedforward Circuitry Drives Tumor Fibrosis, Chemoresistance, and Poor Prognosis in Pancreatic Cancer Tumor-Stromal IRAK4 Drives Pancreatic Cancer. *Cancer research*, 78(7), 1700-1712. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-17-1366