PIBB 生物化学与生物物理进展
Progress in Biochemistry and Biophysics
XXXX, XX(XX): 1~13
www.pibb.ac.cn

血管化脑类器官的构建策略和挑战*

陈梦梦　胡　楠　鲍双庆　李晓红**
（天津大学医学工程与转化医学研究院，天津 300072）

摘要　脑类器官是在体外培养的由多能干细胞（pluripotent stem cells，PSCs）自组织形成的三维（three-dimensional，3D）神经培养物。相比传统二维（two-dimensional，2D）神经细胞培养，脑类器官能够更真实地模拟人脑细胞多样性、3D组织结构、神经网络功能活动等，且克服了动物模型在遗传背景和脑结构特征上与人脑的差异，在重现人脑特异性发育过程、病理特征以及药物反应等方面展现出独特优势，为研究人脑发育和神经系统疾病提供了重要模型。然而，传统脑类器官缺乏功能性脉管系统，导致中心区域氧气和营养物质供应不足，限制了其长期培养和功能成熟，且缺乏神经-血管早期相互作用限制了脑类器官准确建模人脑。近年来，血管化技术的引入显著改善了脑类器官的生理相关性。利用生物学方法（通过内皮细胞共培养、中胚层和外胚层共分化、血管类器官融合，在脑类器官中搭建静态血管网络）、组织工程技术（如通过微流控系统构建动态灌注血管网络，或通过3D打印技术构建人工血管网络）以及在体移植技术（借助宿主血管网络浸润形成具有真实血流灌注的功能性血管网络），研究者们成功构建了多种血管化脑类器官模型。这些模型不仅改善了脑类器官内部缺氧问题，促进其长期培养和成熟，还重建了神经血管单元，模拟了血脑屏障雏形，为研究神经血管疾病和药物测试等提供了高生理相关性平台。然而，实现长期连续功能灌注以及维持血管结构和功能成熟仍是该领域的主要挑战。本文系统总结了人神经血管发育过程和血管化脑类器官的构建策略，并进一步对不同血管化方法进行比较分析以突出其各自的优势和局限性。此外，我们总结了当前脑类器官血管化技术面临的主要挑战，并对其中存在的具体难点进行了讨论。最后，对其在疾病建模和药物测试中的巨大应用前景进行了阐述，讨论了当前血管化脑类器官研究中存在的主要争议和未解决的问题，并对未来研究的可能方向进行了展望。

关键词　多能干细胞，脑类器官，血管化，神经血管发育
中图分类号　Q819，Q28，R318　　**DOI**：10.16476/j.pibb.2024.0488　　**CSTR**：12369.14.pibb.20240488

PIBB Online First
PIBB Online First

脑类器官是由多能干细胞（pluripotent stem cells，PSCs）自组织形成的三维（three-dimensional，3D）培养物，可以模拟大脑的发育过程，反映大脑的生理、病理和药理学特征[1]。目前，生成脑类器官的方法包括非引导分化和引导分化[2-3]。2013年，Lancaster首次通过非引导分化生成了全脑类器官，内部发展出了各种不同的、相互依赖的大脑区域[4]。而引导分化是通过添加各种生长因子和小分子调控Smad、音猬因子（sonic hedgehog，SHH）、Wnt、骨形态发生蛋白（bone morphogenetic protein，BMP）等相关信号通路以形成区域特异性脑类器官[5]，如背侧皮质、腹侧神经节隆起、海马、丘脑、中脑、小脑类器官等[6]。脑类器官包含多种人脑细胞类型，如神经前体细胞、兴奋性/抑制性神经元、星形胶质细胞等，具有人脑特有的外放射状胶质细胞（outer radial glias，oRGs）。其次，脑类器官能形成类似人脑皮层的皮质板分层结构。此外，其基因表达谱与人类胎儿大脑高度相似，能模拟人脑发育过程中基因的时空表达模式，概括内源性胎儿皮层的转录和表观遗传谱并显示生理相关特征[7]。因此，脑类器官在重现细胞多样性、脑组织复杂空间结构、细胞发育微环境、复杂神经网络活性等方面接近真实大脑[8]。

脑类器官能克服动物模型在遗传背景、脑结构

* 国家重点研发计划（2021YFF1200800）和国家自然科学基金（82171861）资助项目。
** 通讯联系人。
Tel：15900240068，E-mail：xhli18@tju.edu.cn
收稿日期：2024-11-25，接受日期：2025-04-10

特征等与人类不同的限制，从而可以更加真实地模拟人脑发育过程和脑部疾病特征[9]。人类与类人猿衍生的脑类器官对比揭示人脑体积更大是因为锌指E盒结合同源盒蛋白2（zinc finger E-box binding homeobox 2，ZEB2）基因延迟表达使得神经祖细胞停留在增殖阶段而不是分化成熟[10]，因而，人脑类器官是有深远前景的研究人脑发育的模型系统。此外，脑类器官已被用于模拟自闭症、精神分裂症等神经发育疾病，表现出与人脑相似的病理特征[11-12]；模拟阿尔茨海默病、帕金森病等神经退行性疾病病理过程，如蛋白质聚集和神经元死亡[13-14]；模拟大脑对寨卡病毒等神经病毒的感染反应，表现出明显的小头畸形等症状[15]。因此，脑类器官在揭示神经发育、神经系统疾病等相关的病理特征和机制，以及药物筛选和基因治疗中发挥独特作用[16]。然而，脑类器官仍面临缺乏功能性脉管系统的挑战，一方面导致类器官中心氧气和营养物质供应不足，造成中心细胞凋亡，进而限制脑类器官体积增长、细胞存活以及发育后期的分化成熟；另一方面，缺乏真实大脑发育过程中神经-血管早期相互作用的模拟限制了脑类器官准确建模人脑[17-18]。

血管化技术早期研究聚焦于通过PSCs、内皮祖细胞及原代血管细胞结合血管内皮生长因子（vascular endothelial growth factor，VEGF）、成纤维细胞生长因子2（fibroblast growth factor 2，FGF2）等的调控，在体外通过自组装构建初级血管网络。随着3D生物打印技术的突破，实现了复杂血管网络的空间拓扑结构精确构建，并集成内皮细胞、平滑肌细胞等多细胞类型[19]。同步发展的微流控技术通过模拟仿生流体微环境如生理血流速度和剪切应力等，显著提升血管网络的灌注功能和屏障特性[20]。研究者们将血管化技术引入脑类器官培养体系构建了多种血管化脑类器官，包括以生物学技术引入血管内皮细胞促进脑类器官与血管内皮细胞的相互作用[21]；以组织工程技术（如微流控技术和3D打印）搭建血管网络或实现离体血管灌注功能[22-23]；以在体移植技术借助宿主体内真实血液灌注环境滋养脑类器官生存，移植物内部形成功能性脉管系统，并与宿主脉管系统相连通[24]。

血管化技术通过构建功能性血管网络显著提升了脑类器官的生理相关性和应用潜力，缓解了类器官中心细胞因缺氧而坏死的问题，支持类器官体积增加和更长期培养，促进其结构和功能成熟；同时，血管细胞与神经细胞相互作用重建了神经血管单元，模拟了血脑屏障雏形，使得血管化脑类器官更精准模拟脑血管畸形等神经血管相关疾病，有望用于评估药物的安全性和有效性，推动个体化药物筛选[25-26]。本文将从人神经血管发育过程及脑类器官血管化不同构建方法展开描述，并总结该领域面临的挑战和对未来的展望。

1 神经血管发育

1.1 脑血管发育和特征

脑血管网络的形成主要包括血管发生和出芽式血管新生，前者是指从无到有形成血管的过程，后者是已存血管以发芽方式形成新血管的过程[27]。血管发生始于中胚层的成血管细胞，在受到FGF2、骨形态发生蛋白4（bone morphogenetic protein 4，BMP4）、VEGF等的刺激下分化为内皮细胞，组装成初级血管网络[28]（图1 a）。在早期阶段，FGF2通过成纤维细胞生长因子受体（fibroblast growth factor receptor，FGFR）激活磷脂酰肌醇3激酶（phosphatidylinositol 3-kinase，PI3K）/蛋白激酶B（protein kinase B，AKT）和丝裂原活化蛋白激酶（mitogen-activated protein kinase，MAPK）信号通路，促进成血管细胞的增殖和迁移。同时，BMP4通过SMAD信号通路诱导成血管细胞向内皮细胞分化，并与Notch信号通路协同调控细胞命运决定。在中期阶段，VEGF通过血管内皮生长因子受体（vascular endothelial growth factor receptor，VEGFR）2激活PI3K/AKT和MAPK信号通路，并与FGF2协同作用，进一步促进内皮细胞的增殖和迁移，形成初步的血管网络。晚期阶段，VEGF通过调控内皮细胞的管腔形成和血管稳定性，促进血管的成熟[28-29]。

血管新生涉及一系列复杂的细胞事件，如发芽起始、迁移、增殖、管腔形成和吻合[30]（图1 b）。VEGF－VEGFR－Delta样配体4（delta-like Ligand 4，Dll4）－Notch信号通路是发芽血管新生的关键调节因子。在低氧环境下，血管周围细胞分泌VEGF，形成从高到低的浓度梯度。尖端细胞可以响应VEGF浓度梯度而移动，VEGF激活VEGFR2，导致尖端细胞中Dll4的上调，进而激活邻近柄细胞中的Notch通路。这一过程导致柄细胞中VEGFR2的下调以及VEGFR1的上调，从而维持尖端细胞和柄细胞之间的平衡。柄细胞具有高增殖能力，负责血管芽的延伸和管腔的形成。随后，发芽血管前部

PBR online first

的尖端细胞相互吻合从而融合新血管，建立起一个可灌注3D血管网络[30-31]。

脑血管发育具有明显的时空特点，不同发育阶段血管化的区域和方式有所不同：在妊娠4~5周神经管闭合期间，原始血管袢出现在神经管表面，通过扩散为其供血。妊娠6周后，脑实质开始发生血管化。在妊娠6~7周左右，血管生长到发育中的大脑皮层的脑室区。在妊娠15~25周期间，皮层内血管化从脑室区向神经元层转移，可能与脑室区神经干细胞增殖及神经元层分化的代谢需求变化密切相关[32]。

脑血管发育的分子机制和发育阶段的特点为脑类器官的血管化提供了重要指导。通过模拟体内血管发育条件（如添加FGF2、VEGF等生长因子、调控低氧环境），可以促进脑类器官中内皮细胞的分化、血管网络的形成以及功能性3D血管系统的建立，从而提升脑类器官的生理相关性和应用潜力。此外，理解尖端细胞和柄细胞的动态平衡以及血管化的时空特点，有助于优化血管化脑类器官的培养策略。

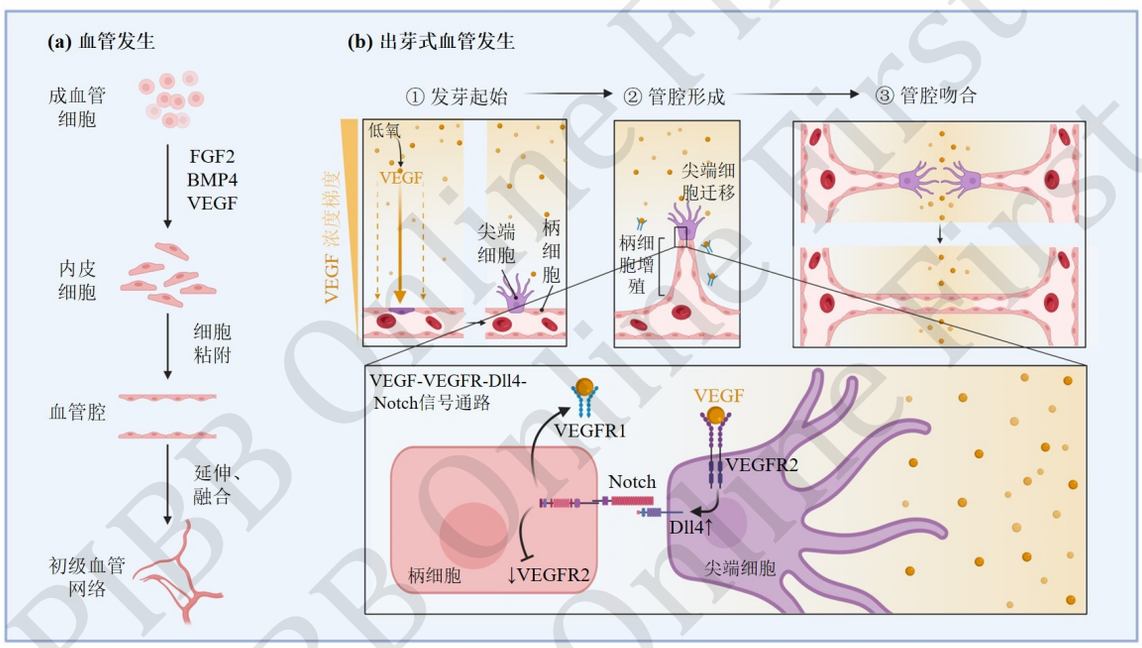


Fig. 1　Development process of cerebral vessels

图1　脑血管发育过程

（a）血管发生过程示意图；（b）出芽式血管新生过程及关键信号通路。FGF2：成纤维细胞生长因子2（fibroblast growth factor 2）；BMP4：骨形态发生蛋白4（bone morphogenetic protein 4）；VEGF：血管内皮生长因子（vascular endothelial growth factor）；VEGFR：血管内皮生长因子受体（vascular endothelial growth factor receptor）；Dll4：Delta样配体4（delta-like Ligand 4）。（使用BioRender.com绘制）。

1.2　血管形成对大脑发育的重要性

脑血管系统具有独特的血脑屏障结构功能。血脑屏障主要由脑微血管内皮细胞、周细胞、星形胶质细胞底足、小胶质细胞、神经元和基底膜组成[33-34]。与外周血管内壁的内皮细胞相比，脑微血管内皮细胞缺乏细胞膜表面窗孔结构，表达细胞间紧密连接蛋白以及特定的分子转运蛋白[35]。这些特征构成了血脑屏障的三大主要功能：物理屏障、转运屏障和代谢屏障。血脑屏障将特定营养物质从外周循环输送到中枢神经系统，并严格控制血液中的水分子、离子、蛋白质、脂质和细胞进入脑组织，此外，迅速排出和降解脑组织中的代谢物或有害物质，以维持脑微环境稳态和正常的神经功能[36-37]。

脑血管系统不仅在大脑稳态中起着不可或缺的作用，而且对人脑的发育至关重要。在人类中，脑血管化与大脑发育同时发生，在这个阶段，脉管缺陷可能导致严重的脑畸形。大脑的血管系统在发育过程中调节神经分化、迁移和回路形成[32]。神经血管单元由血管与中枢神经系统中的神经细胞和神

PIBB Online First

经胶质细胞相互作用形成，通过神经血管耦合过程调节血流，提供营养支持，产生生长因子和旁分泌信号，引导神经元分化[26, 38]。此外，血管通过为神经祖细胞和神经胶质细胞提供特殊的生态位或物理支架来控制它们的分化和迁移[17]。

在大脑发育过程中，血管系统与神经系统通过动态的反馈机制紧密协同[39]。一方面，血管系统根据神经系统的代谢需求（如氧气和葡萄糖）调整自身的生长和功能。例如，在妊娠早期，神经干细胞通过分泌VEGF吸引血管内皮细胞向脑室区迁移，形成放射状血管网络，以提供营养支持；随着神经元迁移和分化，血管网络逐渐向皮层区延伸。在妊娠晚期，星形胶质细胞通过Wnt/β连环蛋白信号通路促进血脑屏障的成熟，确保神经元微环境的稳态。另一方面，神经系统对血管系统的适应性变化进行反馈调控。例如，神经元活动增加时驱动血管生成和血管舒张；然而，当血管密度和血流达到一定水平时，神经元通过降低乳酸分泌或上调VEGF抑制因子，防止血管过度增生。此外，抑制性神经元通过释放神经递质，与血管上相应受体结合，从而抑制过度血管舒张，防止脑过度灌注[40-41]。

2 脑类器官血管化方法

2.1 生物自组织

为解决脑类器官中心细胞缺氧坏死问题，有研究团队通过在脑类器官培养过程中融合内皮细胞来构建血管化类器官。2018年，Pham等[21]首次将同一患者来源的诱导多能干细胞（induced pluripotent stem cells，iPSCs）衍生的血管内皮细胞与全脑类器官共培养实现血管化，结果发现人内皮细胞在脑类器官内部形成具有毛细血管形态的管状通道。然而，内皮细胞不能准确地模拟人脑微血管，且脑类器官和内皮细胞的融合无法很好地模拟大脑神经干细胞和血管细胞的早期相互作用。为此，王晓群团队[42]采用了与人脑微血管更相似的人脐静脉内皮细胞（human umbilical vein endothelial cells，HUVECs），并将HUVECs与胚胎干细胞（embryonic stem cells，ESCs）或iPSCs在体外共培养以生成血管化脑类器官。研究表明，HUVECs在脑类器官中连接并形成发育良好的网状或管状血管结构，促进了脑类器官的成熟发育，反过来，共培养还能诱导HUVECs向脑样内皮细胞发展（表达P-糖蛋白）。此外，血管结构首先位于脑室区/脑室下区上方，与神经祖细胞相邻，之后逐渐出现在脑类器官的迁移区和皮质板中，在一定程度上还原了神经发生过程中血管细胞与神经干细胞之间的相互作用。

除了与内皮细胞共培养的方法，有研究团队使用中胚层与外胚层共分化以构建血管化脑类器官。Ham等[43]在ESCs的诱导分化过程中添加VEGF从而促进脑类器官和血管内皮细胞的共分化，产生具有血脑屏障特征（紧密连接蛋白）的管状血管，然而长期培养期间内皮细胞不能很好地维持，稳健扩张受到限制，且缺乏血流灌注导致4个月脑类器官中内皮管形态扭曲变形。在此基础上，Cakir等[44]致力于构建功能性血管网络，他们通过多西环素（doxycycline，DOX）诱导过表达人ETS变体2（human ETS variant 2，ETV2）衍生出了具有功能性（可灌注）血管样网络和类血脑屏障特征（紧密连接、营养转运蛋白和跨内皮电阻表达的增加）的血管化皮质类器官，并结合体内外灌注环境验证其血管网络连通性，该血管网络还促进了脑类器官功能发育成熟。

此外，由于神经组织起源于外胚层，血管组织起源于中胚层，在体外难以同时应用诱导因子用于不同的胚层分化。因此，有研究通过融合单独培养的血管类器官和脑类器官从而获得血管化类器官。Song等[45]首次利用iPSCs衍生的血管球体与皮质类器官融合的方法引入脉管系统，促进了内皮细胞向脑微血管细胞发展（增强葡萄糖转运蛋白、极化外排转运蛋白、紧密连接蛋白表达），且相较于直接将内皮细胞与其他类型细胞混合的培养系统，球状体融合法避免了细胞解离和再缔合过程，减少了细胞的损失。类似地，Kook等[46]使用HUVECs球体与皮质类器官组装以使脑类器官血管化。然而，仅靠内皮细胞不足以重建完整的血管结构。因此，Ahn等[38]将iPSCs衍生的血管类器官（由内皮细胞、周细胞、平滑肌细胞和基底膜组成）解离成团块并与皮质类器官共培养以模拟胚胎神经血管发育，从而在脑类器官中形成典型的血管样结构，类似于人类皮层中神经血管单位的细胞结构，且在血管化脑类器官中检测到血脑屏障的分子标志物。Dao等[47]优化了脑类器官的培养方案以产生具有丰富成熟星形胶质细胞的皮质结构，与血管类器官融合后在脑类器官中形成了毛细血管网络，且大多数内皮细胞表达血脑屏障特异性标志物（葡萄糖转运蛋白和紧密连接蛋白）并被基底膜、星形胶质细

PBB Online First

胞底足和周细胞包裹，很好的模拟了血脑屏障的关键结构特征。此外，该血脑屏障组装体的跨内皮电阻显著增加并接近体内水平。Sun等[48]融合了脑类器官和中胚层发育来的血管类器官，不仅形成了具有复杂管状血管、功能性神经血管单元的血管化脑类器官（存在表达紧密连接蛋白以及选择渗透性的血脑屏障结构），还通过中胚层体系首次引入了对免疫刺激反应的小胶质细胞。类似地，Kong等[49]通过将皮质类器官与血管类器官融合来开发皮质血管组合体从而在脑类器官中产生脉管系统，且小胶质细胞和星形胶质细胞表达增加。

生物自组织方法通过将内皮细胞系、PSCs来源内皮细胞或血管球引入脑类器官搭建静态血管网络，3~6周可在脑类器官中形成血管分支结构，改善脑类器官内部缺氧及细胞凋亡，促进脑类器官的发育、神经发生以及功能成熟（图2）。此外，该方法可模拟神经血管早期相互作用，一定程度上重建了神经血管单元并模拟血脑屏障雏形。然而，静态血管网络依靠扩散作用进行内外物质交换，缺乏动态流体灌注可能导致长期培养过程中血管结构退化或变形。该方法依赖常规细胞培养技术，无需复杂设备，整体成本相对较低，但批次间差异较大，标准化难度高（表1）。

表1　生物自组织方法实验设计

Table 1　Experimental design of biological self-organization methods

生物自组织方法	脑类器官细胞来源	血管网络细胞来源	培养条件	参考文献
内皮细胞共培养	患者iPSCs	患者iPSCs来源内皮细胞	脑类器官嵌入含有内皮细胞的基质胶	［21］
	hESCs/hiPSCs	HUVECs	细胞混合后种板培养	［42］
中胚层和外胚层共分化	hESCs	hESCs来源内皮细胞	添加VEGF	［43］
	hESCs	hESCs来源内皮细胞	添加DOX诱导ETV2过表达	［44］
与血管类器官融合	hESCs	hESCs来源血管类器官	嵌入基质胶、与血管类器官融合培养	［48］

hiPSCs：人诱导多能干细胞（human induced pluripotent stem cells）；hESCs：人胚胎干细胞（human embryonic stem cells）；HUVECs：人脐静脉内皮细胞（human umbilical vein endothelial cells）；DOX：多西环素（doxycycline）；ETV2：人ETS变体2（human ETS variant 2）；VEGF：血管内皮生长因子（vascular endothelial growth factor）。

2.2　组织工程方法

生物学方法构建的血管化脑类器官虽具备血管网络，但仍缺乏灌注功能或更有效的管腔连通性。为解决这些问题，研究者们引入了组织工程技术构建血管化，一方面借助微流控技术实现体外血管灌注，模拟流体力学功能，另一方面采用3D打印技术构建人工血管网络，模拟人脑微血管通道（图3）。

为了在体外实现血管灌注，研究者们将微流控技术与类器官技术结合起来从而更加真实地模拟血管生长发育环境。Shaji等[22]首次在微流控芯片上将HUVECs自组织产生的可灌注3D血管床与脑类器官共培养通过血管萌芽进行血管化，增强了脑类器官的分化和成熟，然而血管结构主要局限于类器官的最外层，共培养10 d后脑类器官的血管萌芽受到抑制。类似地，Shin等[50]利用微流控芯片通过可灌注HUVECs血管床对诱导神经干细胞衍生的球体进行血管化。此外，利用具有“开孔”设计的微流控芯片，Salmon等[51]将脑类器官直接精确的放置在填充基质凝胶的中央腔室，并在两侧的微流体通道中共培养iPSCs衍生的内皮细胞和周细胞，导致从通道中萌发血管芽侵入脑类器官在边缘形成短而高度分支的可灌注血管。这种方法与体内脉管系统的形成过程高度相似，且可在脑类器官中形成分支血管结构。微流体可构建与体内生理相似的3D微环境，以微通道结构和流体动力学控制实现生长因子（如VEGF）的时空梯度释放以及机械刺激（如生理流体流动和剪切应力）的可控诱导，在脑类器官中生成可灌注的血管网络，有利于血管网络复杂度和成熟度提升。然而，其存在技术稳定性挑战，微通道中气泡的产生可能阻断灌注，导致局部细胞死亡，针对该问题，在芯片上集成气泡陷阱模块并结合阻抗传感器或光学检测模块，可实现气泡的在线预警与自动清除[52]。

为进一步改善血管网络有效连通性，研究团队使用3D打印技术构建人工血管。Skylar-Scott等[53]通过嵌入式3D生物打印在包含众多脑类器官的活体基质中打印了热降解明胶支架，之后用HUVECs填充管道从而构建一个可灌注的血管通道，尽管未观察到血管发芽到类器官基质中，但类器官活力增加。通过这种生物制造方式能够以任意方向打印血管通道以形成具有特定几何形状的可灌注血管，但

IBB Online First

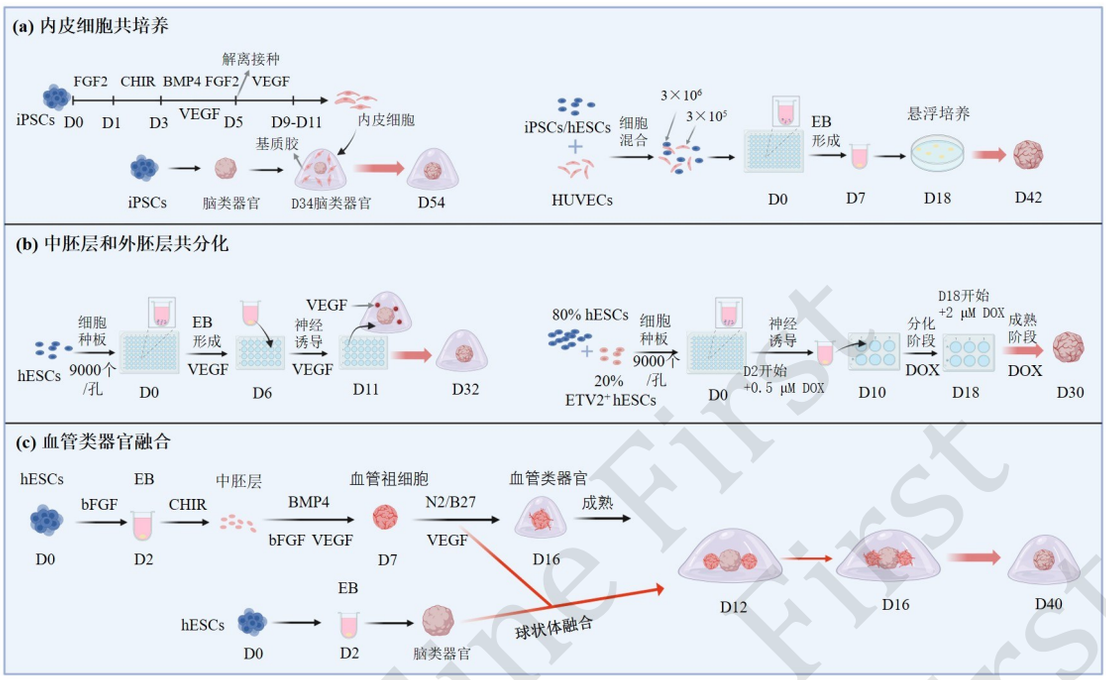


Fig. 2　Vascularization using biological self-organization methods

图2　利用生物自组织方法进行血管化

（a）内皮细胞共培养生成血管化脑类器官具体步骤[21, 42]；（b）中胚层和外胚层共分化生成血管化脑类器官具体步骤[43, 44]；（c）与血管类器官融合生成血管化脑类器官具体步骤[48]。iPSCs：诱导多能干细胞（induced pluripotent stem cells）；hESCs：人胚胎干细胞（human embryonic stem cells）；HUVECs：人脐静脉内皮细胞（human umbilical vein endothelial cells）；DOX：多西环素（doxycycline）；ETV2：人ETS变体2（human ETS variant 2）；FGF2：成纤维细胞生长因子2（fibroblast growth factor 2）；VEGF：血管内皮生长因子（vascular endothelial growth factor）；BMP4：骨形态发生蛋白4（bone morphogenetic protein 4）；CHIR：一种WNT通路激活剂；bFGF：碱性成纤维细胞生长因子（basic fibroblast growth factor）。（使用BioRender.com绘制）。

低于400 μm的通道无法高保真打印。最近，Xu等[23]采用双光子聚合3D打印构建了侧壁密集分布着直径为20 μm微孔的高分辨率人工网状血管，突破了3D打印难以在血管结构中创建直径100 μm或更小的微孔的挑战，用于模拟人脑微血管的网格特征。将网状血管与脑类器官共培养可以使培养基扩散到脑类器官的核心，改善其营养供应和代谢物排出，促进了它们的尺寸突破生长和成熟。3D打印技术可借助计算机辅助设计，定制血管形状、尺寸和分布，无需物理模具即可创建复杂内部结构。双光子聚合3D打印已被证实可对血管侧壁内的微米级微孔进行精确加工。然而，打印的人工血管不包含血管细胞，无法模拟血管细胞和神经细胞的相互作用，有望通过将血管内皮细胞与3D打印的仿生血管相结合来构建更逼真的活性血管网络。此外，3D打印存在血流动力学缺失、动态微环境模拟不足问题，整合微流控芯片模拟生理性流体灌注有望实现内外连通的可灌注血管网络。

2.3　借助动物宿主血管实现血管化

尽管在体外通过生物自组织或利用组织工程技术能够在脑类器官中形成管状血管网络，但仍缺乏真实的血液微环境及血流灌注，因此，一些研究团队将脑类器官移植到免疫缺陷动物血运丰富的组织中，利用宿主血管侵入到脑类器官中形成具有真实血流灌注的功能性血管网络（图4）。

2018年，Mansour等[24]首次将人脑类器官移植到免疫缺陷小鼠压后皮质中，宿主血管能够侵入移植物并生长延伸，形成具有活跃血流灌注的功能性血管网络。该血管网络可以长期存在并维持类器官移植物在体存活超过200 d，明显减少了移植物内部凋亡细胞数量，并促进其神经分化和功能成熟。随后，一些研究小组在体外构建血管化脑类器官的基础上也进一步将预血管化的脑类器官移植到免疫缺陷鼠中。Shi等[42]将HUVECs构建的血管

PIBB Online First

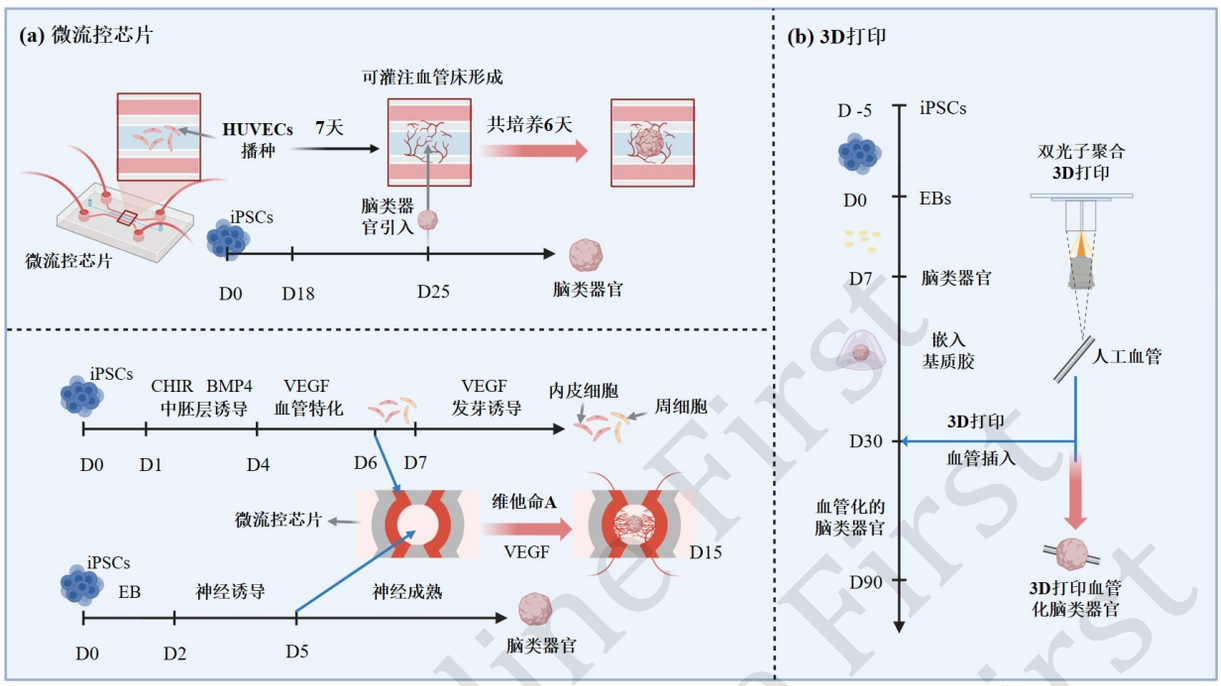


Fig. 3　Vascularization using tissue engineering strategies

图3　利用组织工程血管化

（a）利用微流控芯片在体外培养具有可灌注血管网络的脑类器官[22, 51]；（b）3D打印血管化脑类器官生成的具体步骤[23]。iPSCs：诱导多能干细胞（induced pluripotent stem cells）；HUVECs：人脐静脉内皮细胞（human umbilical vein endothelial cells）；CHIR：一种WNT通路激活剂；BMP4：骨形态发生蛋白4（bone morphogenetic protein 4）；VEGF：血管内皮生长因子（vascular endothelial growth factor）；3D：三维（three-dimensional）。（使用BioRender.com绘制）。

化脑类器官移植到免疫缺陷小鼠的感觉皮层，研究表明血管化脑类器官中的内皮细胞可以整合到宿主的血管中，并形成新的有血液流动的功能性血管网络，同时减少了移植物的细胞凋亡。类似地，Cakir等[44]将ETV2过表达构建的血管化类器官移植到宿主后肢皮下区域，葡聚糖灌注结果显示ETV2诱导的内皮细胞支持功能性的血管系统形成，其功能性脉管系统与小鼠脉管系统相连。

近年来，基于在体血管微环境滋养移植物生长发育，研究者们还实现了更真实的疾病模型构建以及移植物与宿主神经环路整合的探究。Daviaud等[54]将脑类器官移植到小鼠的前顶叶皮层也观察到宿主血管侵入脑类器官的周围和中心。Revah等[55]将脑类器官移植到新生无胸腺大鼠的感觉皮层中，还原了蒂莫西综合征患者的疾病表型，这是在体外培养中未观察到的，他们还进一步发现类器官移植物能够参与到宿主的感觉功能环路中。此外，Jgamadze等[56]将脑类器官移植到免疫抑制大鼠视觉皮层后，在宿主血管滋养下，脑类器官能够与宿主的视觉环路建立连接，并对闪光灯等视觉刺激做出反应。

脑类器官可借用宿主体内血管网络浸润形成具有真实血流灌注的功能性血管网络，移植后2周内宿主血管可侵入脑类器官中，滋养其在体存活与发育。然而，该方法依赖动物模型，存在伦理限制，且难以大规模应用和标准化。综上，使用不同方案建立的血管化脑类器官在其特性上存在显着差异，应综合考虑其优缺点和效果，从而选择最适合特定研究目标的方法（表2）。

PIBB Online First

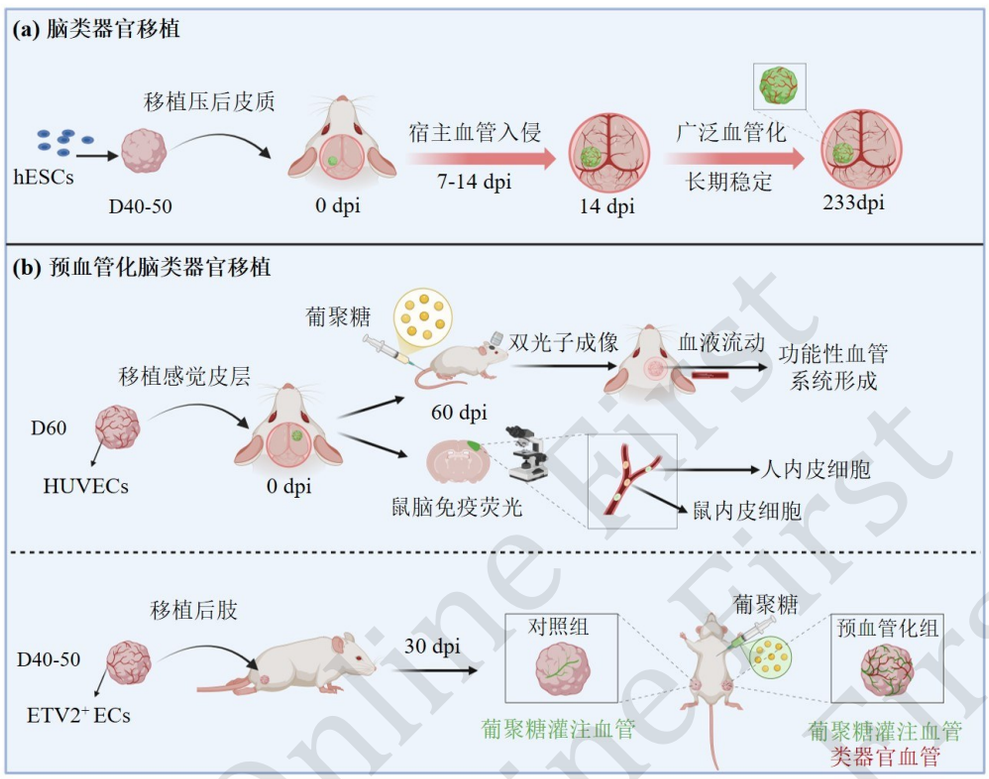


Fig. 4　Vascularization using animal host vasculature

图4　借助动物宿主血管实现血管化

（a）将脑类器官移植到免疫缺陷鼠脑中形成可灌注的功能性血管网络[24]；（b）将体外预血管化的脑类器官移植到免疫缺陷鼠体内形成内外连通的功能性血管网络[42, 44]。hESCs：人胚胎干细胞（human embryonic stem cells）；dpi：移植后天数（day post-implantation）；HUVECs：人脐静脉内皮细胞（human umbilical vein endothelial cells）；ETV2：人ETS变体2（human ETS variant 2）；ECs：内皮细胞（Endothelial Cells）。（使用BioRender.com绘制）。

Table 2 Comparison of vascularization methods for brain organoids

表2　脑类器官血管化方法比较

血管化方法	核心策略	效率	成本	可扩展性	核心优势	主要挑战	适用实验场景	较好实验结果
生物自组织	内皮细胞系、PSCs来源内皮细胞或血管球引入脑类器官搭建静态血管网络	中	低	中	模拟神经血管早期相互作用	缺乏动态流体灌注	神经血管互作机制；血脑屏障；疾病建模	功能性神经血管单元，血脑屏障形成[48]
组织工程	微流控芯片模拟生理相似微环境，如流体力学和生长因子释放，在脑类器官中生成可灌注的血管网络	高	高	高	动态灌注血管网络	技术稳定性	药物筛选；动态微环境研究	高度分支血管萌芽，可灌注血管床增强脑类器官成熟[51]
	3D打印构建形状可控的人工血管网络	中	高	中	高分辨率血管结构定制	缺乏细胞交互与活性血管功能	精准血管结构需求场景	双光子3D打印20 μm微孔人工血管，改善脑类器官供氧[23]
植入动物宿主	借用宿主体内血管网络浸润形成具有真实血流灌注的功能性血管网络	高	高	低	真实血流与长期存活	依赖动物，有伦理与可重复性限制	再生医学；疾病建模	移植物具有活跃血流灌注，存活>200天[24]

PSCs：多能干细胞（pluripotent stem cells,）；3D：三维（three-dimensional）。

PIBB Online First

3　脑类器官血管化的挑战

无论采用何种方法实现脑类器官的血管化，尽管短期可灌注血管能够改善类器官的营养和氧气供应，延长其寿命并促进成熟，但实现长期连续功能灌注及维持血管结构和功能成熟仍是主要挑战[52]。长期连续灌注的难点包括：a. 血管塌陷或闭塞：体外培养的血管通常缺乏完整基底膜和周细胞支持，导致结构不稳定，长期培养易退化或塌陷；b. 微流控芯片血管通道堵塞：芯片通道尺寸较小，易因细胞碎片或蛋白沉积堵塞，影响灌注效果；c. 流体剪切力精准调控困难：过高剪切力可能损伤内皮细胞，而过低则无法有效促进血管成熟。针对这些问题，可能的研究方向包括：a. 优化生物材料支架，如使用纳米纤维水凝胶提供机械支撑，防止血管坍塌并促进内皮细胞黏附；b. 优化微流控通道设计，调整尺寸和几何形状以减少堵塞，并开发抗污染涂层降低蛋白吸附；c. 动态调控流体动力学参数，模拟生理性血流剪切力。

维持血管结构和功能成熟的难点在于：a. 缺乏周细胞和平滑肌细胞支持，导致血管不稳定，可通过引入多种血管细胞构建完整神经血管单元以增强稳定性；b. 血管需持续力学刺激以维持形态和功能，传统静态培养难以提供，整合微流控系统可模拟生理性剪切力和周期性压力，促进血管成熟；c. 随着类器官尺寸增大（超过1~2 mm），核心区域氧气和物质渗透受限，代谢废物积累抑制细胞活性，且关键调控工具（如DOX诱导的ETV2过表达系统）难以渗透至中心区域，导致内皮细胞退化。类器官振动切片结合气液交互培养可显著提高氧气和培养基交换效率，整合该系统有望突破这一难点[57]。

此外脑类器官中产生的血管化网络是不规则的，无法模拟体内血管的分层分布和方向[58]。目前皮质类器官和全脑类器官血管化已经取得了一些成功，但针对其他区域特异性脑类器官如丘脑类器官、小脑类器官等的血管化尚未完全实现，仍然是脑类器官研究中的一个活跃和挑战性的领域。

4　总结与展望

综上，脑类器官模型通过多种血管化方法在脑类器官中生成血管网络系统，有效改善其内部缺氧导致的细胞凋亡，促进其细胞类型更丰富且成熟度提升，一定程度上突破了尺寸限制。血管与脑类器官的相互作用促进了神经发生，有利于脑类器官的功能成熟，更精准地模拟人脑发育过程，在一定程度上模拟血脑屏障微环境，在疾病模型的建立和药物测试中展现出巨大的应用前景。

a. 血管化脑类器官在神经血管疾病和神经退行性疾病模型构建中有巨大潜力。Dao等[47]利用患者iPSCs构建的血管化脑类器官，成功复现了脑海绵状血管畸形的典型病理特征，包括内皮通道扩张、紧密连接蛋白和基底膜蛋白表达降低，模拟血管病变特征并揭示其可能机制。此外，血管化脑类器官还可用于研究神经退行性疾病，其病理机制涉及微血管损伤与神经炎症的相互作用。Kong等[49]构建了包含功能性血管网络、星形胶质细胞和小胶质细胞的血管化脑类器官模型，该模型复现了严重急性呼吸综合征冠状病毒2（severe acute respiratory syndrome coronavirus 2，SARS-CoV-2）引起的神经炎症和微血管损伤，并表现出阿尔茨海默病的典型病理特征，如β淀粉样斑块沉积和tau蛋白过度磷酸化，揭示了病毒感染通过神经炎症加剧淀粉样蛋白异常代谢的机制。血管化模型为解析疾病机制提供了高生理相关性的研究平台。

b. 血管化脑类器官在药物测试中具有广泛应用前景。在未来研究中，血管化脑类器官有望在更接近人体生理环境的条件下评估药物的神经毒性和血管毒性，促进药物在类器官中的均匀分布，模拟药物在大脑中的代谢和毒性反应，对于预测药物在临床应用中的安全性具有重要价值。在药物疗效评估方面，血管化脑类器官可以模拟神经血管单元的结构和功能，研究药物对神经血管相互作用的影响，如药物对血管生成和神经保护等的影响。通过检测药物在血管化脑类器官中的分布和渗透性，可以评估其是否能够有效穿过血脑屏障，从而优化药物设计。例如，某些抗癌药物或神经退行性疾病治疗药物需要穿过血脑屏障才能发挥作用，血管化脑类器官可以帮助筛选出具有良好血脑屏障通透性的候选药物。在脑卒中、脑外伤或神经炎症等疾病中，血脑屏障的损伤是重要病理特征。患者来源的血管化脑类器官可以用于测试药物对血脑屏障修复的作用，为开发保护或修复血脑屏障的治疗方法提供依据。

尽管该领域发展迅速，但当前脑类器官血管化研究中仍存在一些争议和未解决的问题。a. 向脑类器官中引入脉管系统是否会改变血管附近细胞的身份？血管化能否促进更多细胞亚型或更成熟细胞类

PIBB Online First

型的发育？b. 血管化对脑类器官的功能活性有什么影响？例如，功能性血管样结构会增强电生理信号的活跃度和复杂度吗？未来研究方向如下：a. 系统性研究血管化如何影响细胞命运。通过单细胞转录组测序，追踪血管附近不同细胞类型的身份变化，确定血管是否影响神经元或胶质细胞的发育。研究血管化是否诱导了更多成熟细胞亚型（如兴奋性/抑制性神经元、星形胶质细胞亚型）。b. 量化血管化对电生理信号的影响：采用网格电极或柔性电极与脑类器官长期共培养，检测血管化后神经活动是否增加，并分析电信号模式是否更接近活体神经网络。研究血管化是否促进突触可塑性、神经元连接和神经回路的复杂性。

参 考 文 献

[1] Miura Y, Pașca S P. Polarizing brain organoids. Nat Biotechnol, 2019, **37**(4): 377-378

[2] Qian X, Song H, Ming G L. Brain organoids: advances, applications and challenges. Development, 2019, **146**(8): dev166074

[3] Chhibber T, Bagchi S, Lahooti B, *et al*. CNS organoids: an innovative tool for neurological disease modeling and drug neurotoxicity screening. Drug Discov Today, 2020, **25**(2): 456-465

[4] Lancaster M A, Renner M, Martin C A, *et al*. Cerebral organoids model human brain development and microcephaly. Nature, 2013, **501**(7467): 373-379

[5] Jacob F, Schnoll J G, Song H, *et al*. Chapter twelve building the brain from scratch: engineering region-specific brain organoids from human stem cells to study neural development and disease. Curr Top Dev Biol, 2021, 142: 477-530

[6] Li X, Shopit A, Wang J. A comprehensive update of cerebral organoids between applications and challenges. Oxid Med Cell Longev, 2022, **2022**(1): 7264649

[7] Uzquiano A, Kedaigle A J, Pigoni M, *et al*. Proper acquisition of cell class identity in organoids allows definition of fate specification programs of the human cerebral cortex. Cell, 2022, **185**(20): 3770-3788.e27

[8] Lu X, Yang J, Xiang Y. Modeling human neurodevelopmental diseases with brain organoids. Cell Regen, 2022, **11**(1): 1

[9] Birtele M, Lancaster M, Quadrato G. Modelling human brain development and disease with organoids. Nat Rev Mol Cell Biol, 2024. https://doi.org/10.1038/s41580-024-00804-1

[10] Benito-Kwiecinski S, Giandomenico S L, Sutcliffe M, *et al*. An early cell shape transition drives evolutionary expansion of the human forebrain. Cell, 2021, **184**(8): 2084-2102.e19

[11] Jourdon A, Wu F, Mariani J, *et al*. Modeling idiopathic autism in forebrain organoids reveals an imbalance of excitatory cortical neuron subtypes during early neurogenesis. Nat Neurosci, 2023, **26**(9): 1505-1515

[12] Notaras M, Lodhi A, Dündar F, *et al*. Schizophrenia is defined by cell-specific neuropathology and multiple neurodevelopmental mechanisms in patient-derived cerebral organoids. Mol Psychiatry, 2022, **27**(3): 1416-1434

[13] Gonzalez C, Armijo E, Bravo-Alegria J, *et al*. Modeling amyloid beta and tau pathology in human cerebral organoids. Mol Psychiatry, 2018, **23**(12): 2363-2374

[14] Morrone Parfitt G, Coccia E, Goldman C, *et al*. Disruption of lysosomal proteolysis in astrocytes facilitates midbrain organoid proteostasis failure in an early-onset Parkinson's disease model. Nat Commun, 2024, **15**(1): 447

[15] Qian X, Nguyen H N, Song M M, *et al*. Brain-region-specific organoids using mini-bioreactors for modeling ZIKV exposure. Cell, 2016, **165**(5): 1238-1254

[16] Chen H, Jin X, Li T, *et al*. Brain organoids: establishment and application. Front Cell Dev Biol, 2022, **10**: 1029873

[17] Morimoto K, Tabata H, Takahashi R, *et al*. Interactions between neural cells and blood vessels in central nervous system development. BioEssays, 2024, **46**(3): 2300091

[18] Jeong E, Choi S, Cho S W. Recent advances in brain organoid technology for human brain research. ACS Appl Mater Interfaces, 2023, **15**(1): 200-219

[19] Hann S Y, Cui H, Esworthy T, *et al*. Recent advances in 3D printing: vascular network for tissue and organ regeneration. Transl Res, 2019, 211: 46-63

[20] Chen S W, Blazeski A, Zhang S, *et al*. Development of a perfusable, hierarchical microvasculature-on-a-chip model. Lab Chip, 2023, **23**(20): 4552-4564

[21] Pham M T, Pollock K M, Rose M D, *et al*. Generation of human vascularized brain organoids. Neuroreport, 2018, **29**(7): 588-593

[22] Shaji M, Tamada A, Fujimoto K, *et al*. Deciphering potential vascularization factors of on-chip co-cultured hiPSC-derived cerebral organoids. Lab Chip, 2024, **24**(4): 680-696

[23] Xu L, Ding H, Wu S, *et al*. Artificial meshed vessel-induced dimensional breaking growth of human brain organoids and multiregional assembloids. ACS Nano, 2024. DOI: 10.1021/acsnano.4c07844

[24] Mansour A A, Gonçalves J T, Bloyd C W, *et al*. An *in vivo* model of functional and vascularized human brain organoids. Nat Biotechnol, 2018, **36**(5): 432-441

[25] Kistemaker L, van Bodegraven E J, de Vries H E, *et al*. Vascularized human brain organoids: current possibilities and prospects. Trends Biotechnol, 2025, **S0167**-7799(24)**00357**-3

[26] Rizzuti M, Melzi V, Brambilla L, *et al*. Shaping the neurovascular unit exploiting human brain organoids. Mol Neurobiol, 2024, **61**(9): 6642-6657

[27] Payne S, Neal A, De Val S. Transcription factors regulating vasculogenesis and angiogenesis. Dev Dyn, 2024, **253**(1): 28-58

[28] Potente M, Mäkinen T. Vascular heterogeneity and specialization in development and disease. Nat Rev Mol Cell Biol, 2017, **18**(8): 477-494

[29] Trimm E, Red-Horse K. Vascular endothelial cell development and

PIBB Online First PIBB Online First

diversity. Nat Rev Cardiol, 2023, **20**(3): 197-210

[30] Wälchli T, Bisschop J, Carmeliet P, *et al*. Shaping the brain vasculature in development and disease in the single-cell era. Nat Rev Neurosci, 2023, **24**(5): 271-298

[31] Zhang R, Yao Y, Gao H, *et al*. Mechanisms of angiogenesis in tumour. Front Oncol, 2024, **14**: 1359069

[32] Matsui T K, Tsuru Y, Hasegawa K, *et al*. Vascularization of human brain organoids. Stem Cells, 2021, **39**(8): 1017-1024

[33] Wei C, Jiang W, Wang R, *et al*. Brain endothelial GSDMD activation mediates inflammatory BBB breakdown. Nature, 2024, **629**(8013): 893-900

[34] Kumar Nelson V, Jha N K, Nuli M V, *et al*. Unveiling the impact of aging on BBB and Alzheimer's disease: factors and therapeutic implications. Ageing Res Rev, 2024, **98**: 102224

[35] Paredes I, Himmels P, Ruiz de Almodóvar C. Neurovascular communication during CNS development. Dev Cell, 2018, **45**(1): 10-32

[36] Xue S, Zhou X, Yang Z H, *et al*. Stroke-induced damage on the blood-brain barrier. Front Neurol, 2023, **14**: 1248970

[37] Castro M, Potente M. The blood-brain barrier-a metabolic ecosystem. EMBO J, 2022, **41**(9): e111189

[38] Ahn Y, An J H, Yang H J, *et al*. Human blood vessel organoids penetrate human cerebral organoids and form a vessel-like system. Cells, 2021, **10**(8): 2036

[39] Zhang Y, Shen X, Deng S, *et al*. Neural regulation of vascular development: molecular mechanisms and interactions. Biomolecules, 2024, **14**(8): 966

[40] Presa J L, Saravia F, Bagi Z, *et al*. Vasculo-neuronal coupling and neurovascular coupling at the neurovascular unit: impact of hypertension. Front Physiol, 2020, **11**: 584135

[41] Stackhouse T L, Mishra A. Neurovascular coupling in development and disease: focus on astrocytes. Front Cell Dev Biol, 2021, **9**: 702832

[42] Shi Y, Sun L, Wang M, *et al*. Vascularized human cortical organoids (vOrganoids) model cortical development *in vivo*. PLoS Biol, 2020, **18**(5): e3000705

[43] Ham O, Jin Y B, Kim J, *et al*. Blood vessel formation in cerebral organoids formed from human embryonic stem cells. Biochem Biophys Res Commun, 2020, **521**(1): 84-90

[44] Cakir B, Cakir B, Xiang Y, *et al*. Engineering of human brain organoids with a functional vascular-like system. Nat Methods, 2019, **16**(11): 1169-1175

[45] Song L, Yuan X, Jones Z, *et al*. Assembly of human stem cell-derived cortical spheroids and vascular spheroids to model 3-D brain-like tissues. Sci Rep, 2019, **9**(1): 5977

[46] Kook M G, Lee S E, Shin N, *et al*. Generation of cortical brain organoid with vascularization by assembling with vascular spheroid. Int J Stem Cells, 2022, **15**(1): 85-94

[47] Dao L, You Z, Lu L, *et al*. Modeling blood-brain barrier formation and cerebral cavernous malformations in human PSC-derived organoids. Cell Stem Cell, 2024, **31**(6): 818-833.e11

[48] Sun X Y, Ju X C, Li Y, *et al*. Generation of vascularized brain organoids to study neurovascular interactions. eLife, 2022, **11**: e76707

[49] Kong D, Park K H, Kim D H, *et al*. Cortical-blood vessel assembloids exhibit Alzheimer's disease phenotypes by activating glia after SARS-CoV-2 infection. Cell Death Discov, 2023, **9**(1): 32

[50] Shin N, Kim Y, Ko J, *et al*. Vascularization of iNSC spheroid in a 3D spheroid-on-a-chip platform enhances neural maturation. Biotechnol Bioeng, 2022, **119**(2): 566-574

[51] Salmon I, Grebenyuk S, Abdel Fattah A R, *et al*. Engineering neurovascular organoids with 3D printed microfluidic chips. Lab Chip, 2022, **22**(8): 1615-1629

[52] Tan S Y, Feng X, Cheng L K W, *et al*. Vascularized human brain organoid on-chip. Lab Chip, 2023, **23**(12): 2693-2709

[53] Skylar-Scott M A, Uzel S G M, Nam L L, *et al*. Biomanufacturing of organ-specific tissues with high cellular density and embedded vascular channels. Sci Adv, 2019, **5**(9): eaaw2459

[54] Daviaud N, Friedel R H, Zou H. Vascularization and engraftment of transplanted human cerebral organoids in mouse cortex. eNeuro, 2018, **5**(6): ENEURO.0219-ENEURO.0218.**2018**

[55] Revah O, Gore F, Kelley K W, *et al*. Maturation and circuit integration of transplanted human cortical organoids. Nature, 2022, **610**(7931): 319-326

[56] Jgamadze D, Lim J T, Zhang Z, *et al*. Structural and functional integration of human forebrain organoids with the injured adult rat visual system. Cell Stem Cell, 2023, **30**(2): 137-152.e7

[57] Qian X, Su Y, Adam C D, *et al*. Sliced human cortical organoids for modeling distinct cortical layer formation. Cell Stem Cell, 2020, **26**(5): 766-781.e9

[58] Li M, Gao L, Zhao L, *et al*. Toward the next generation of vascularized human neural organoids. Med Res Rev, 2023, **43**(1): 31-54

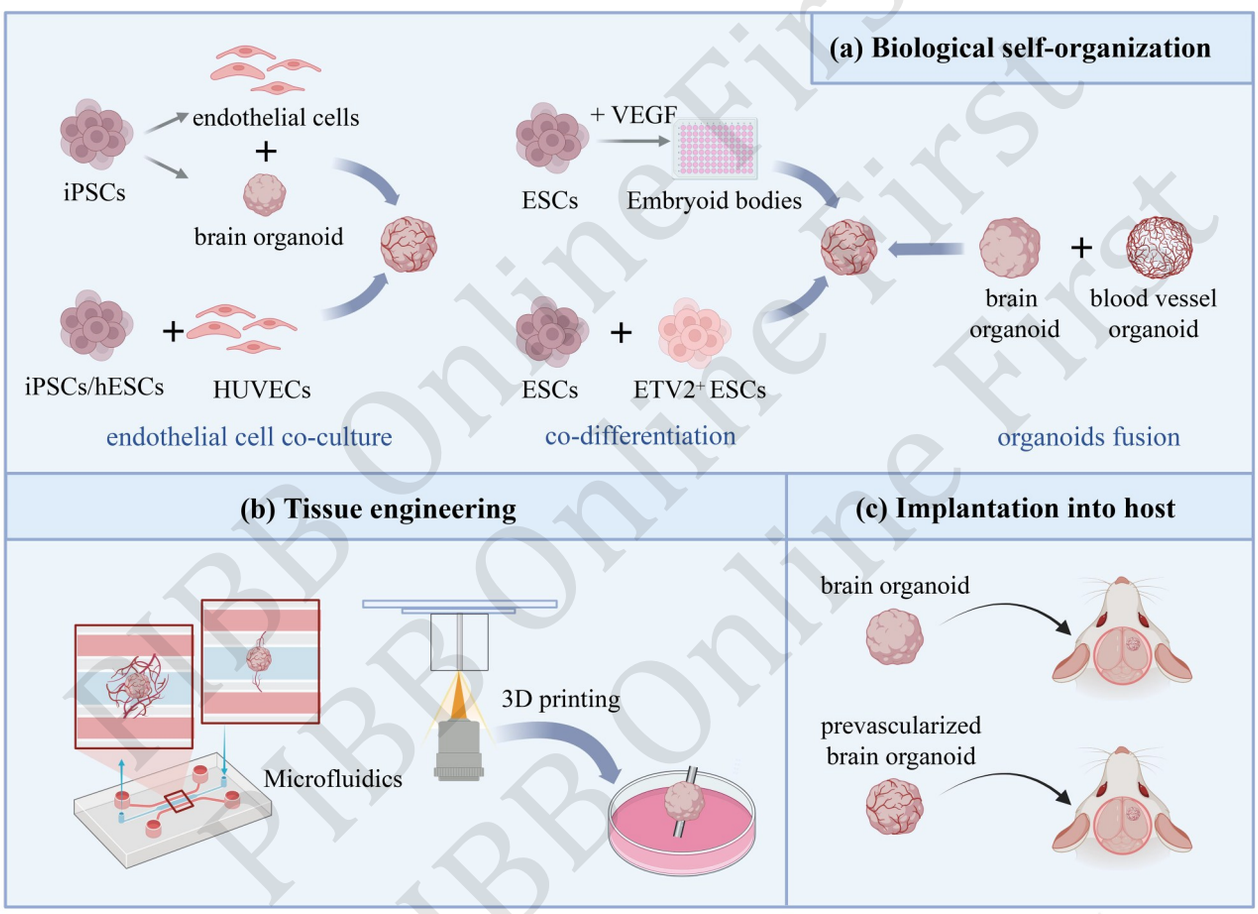
PIBB Online First

Construction Strategies and Challenges of Vascularized Brain Organoids*

CHEN Meng-Meng, HU Nan, BAO Shuang-Qing, LI Xiao-Hong**

(*Institute of Medical Engineering and Translational Medicine*,, *Tianjin University*, *Tianjin* 300072, China)

Graphical abstract



Abstract　Brain organoids are three-dimensional (3D) neural cultures that self-organize from pluripotent stem cells (PSCs) cultured in vitro. Compared with traditional two-dimensional (2D) neural cell culture systems, brain organoids demonstrate a significantly enhanced capacity to faithfully replicate key aspects of the human brain, including cellular diversity, 3D tissue architecture, and functional neural network activity. Importantly, they also overcome the inherent limitations of animal models, which often differ from human biology in terms of genetic background and brain structure. Owing to these advantages, brain organoids have emerged as a powerful tool for recapitulating human-specific developmental processes, disease mechanisms, and pharmacological responses, thereby providing an indispensable model for advancing our understanding of human brain development and neurological disorders. Despite their considerable potential, conventional brain organoids face a critical limitation: the absence of a functional vascular system. This deficiency results in inadequate oxygen and nutrient delivery to the core regions of the organoid, ultimately constraining long-term viability and functional maturation. Moreover,

PIBBOnline First

the lack of early neurovascular interactions prevents these models from fully recapitulating the human brain microenvironment. In recent years, the introduction of vascularization strategies has significantly enhanced the physiological relevance of brain organoid models. Researchers have successfully developed various vascularized brain organoid models through multiple innovative approaches. Biological methods, for example, involve co-culturing brain organoids with endothelial cells to induce the formation of static vascular networks. Alternatively, co-differentiation strategies direct both mesodermal and ectodermal lineages to generate vascularized tissues, while fusion techniques combine pre-formed vascular organoids with brain organoids. Beyond biological approaches, tissue engineering techniques have played a pivotal role in promoting vascularization. Microfluidic systems enable the creation of dynamic, perfusable vascular networks that mimic blood flow, while 3D printing technologies allow for the precise fabrication of artificial vascular scaffolds tailored to the organoid's architecture. Additionally, in vivo transplantation strategies facilitate the formation of functional, blood-perfused vascular networks through host-derived vascular infiltration. The incorporation of vascularization has yielded multiple benefits for brain organoid models. It alleviates hypoxia within the organoid core, thereby improving cell survival and supporting long-term culture and maturation. Furthermore, vascularized organoids recapitulate critical features of the neurovascular unit, including the early structural and functional characteristics of the blood-brain barrier. These advancements have established vascularized brain organoids as a highly relevant platform for studying neurovascular disorders, drug screening, and other applications. However, achieving sustained, long-term functional perfusion while preserving vascular structural integrity and promoting vascular maturation remains a major challenge in the field. In this review, we systematically outline the key stages of human neurovascular development and provide a comprehensive analysis of the various strategies employed to construct vascularized brain organoids. We further present a detailed comparative assessment of different vascularization techniques, highlighting their respective strengths and limitations. Additionally, we summarize the principal challenges currently faced in brain organoid vascularization and discuss the specific technical obstacles that persist. Finally, in the outlook section, we elaborate on the promising applications of vascularized brain organoids in disease modeling and drug testing, address the main controversies and unresolved questions in the field, and propose potential directions for future research.

Key words　pluripotent stem cells, brain organoids, vascularization, neurovascular development
DOI：10.16476/j.pibb.2024.0488　　**CSTR**：12369.14.pibb.20240488

* This work was supported by grants from National Key Research and Development Program (2021YFF1200800) and The National Natural Science Foundation of China (82171861).

** Corresponding author.
Tel：86-15900240068，E-mail：xhli18@tju.edu.cn

Received：November 25，2024　Accepted：April 10，2025

PIBB Online First