



周婕, 香港大学李嘉诚医学院微生物系助理教授。研究方向是类器官模型构建及基于类器官技术的病毒学研究。团队建立了世界上第一个人呼吸道类器官培养系统和蝙蝠肠道类器官, 这些创新的类器官为各种生物医学研究和药物开发提供了全新的具有生理活性的模型。周婕教授在*Nat Med*、*PNAS*、*Sci Adv*等期刊上发表了100余篇研究论文。自2021年起, 周婕教授被Clarivate评为高被引学者。周婕教授和团队于2021年创立比幹生物科技有限公司, 旨在商业化他们的呼吸道类器官专利技术。



李存, 香港大学李嘉诚医学院微生物系研究助理教授。主要利用呼吸道类器官模型研究呼吸道病毒与宿主相互作用, 基于人呼吸道类器官模型发掘影响病毒感染和复制的未知宿主因子。近十年来, 在新发病毒研究领域共发表SCI收录论文45篇, 其中第一/共同第一作者论文共12篇, H因子为25, 总引用4 500余次。主持或参与国家自然科学基金2项, 参与多项香港特别行政区科研基金, 拥有类器官国际发明专利4项。

呼吸道类器官和基于呼吸道类器官的病毒学研究

万智信 周婕* 李存*

(香港大学李嘉诚医学院, 香港 999077)

摘要 呼吸道病毒感染性疾病对全球公共卫生构成重大威胁, 传统细胞系和动物模型在感染机制模拟和药物评估中存在局限性。该综述系统阐述了基于成体干细胞的呼吸道类器官技术, 包括鼻黏膜、气道及肺泡类器官的构建方法及其在病毒学研究中的突破性应用。通过生态位因子调控和三维培养, 呼吸道类器官能够高度模拟呼吸道黏膜上皮的细胞构成和功能, 已成功应用于新冠病毒(SARS-CoV-2)、甲型流感病毒(IAV)、呼吸道合胞病毒(RSV)及鼻病毒C型(HRV-C)的感染机制研究, 揭示了病毒变异株的传播特性、宿主免疫应答特征及抗病毒药物筛选潜力。此外, 文章还探讨了类器官模型在感染性疾病研究中的挑战和发展方向。

关键词 呼吸道类器官; 病毒; 感染

收稿日期: 2025-06-17

接受日期: 2025-07-18

中华人民共和国科技部的国家重点研发计划(批准号: 2021YFC0866100)、香港特别行政区政府卫生署传染病控制专项计划(批准号: CID-HKU1-3)及新型冠状病毒疾病研究计划(批准号: COVID1903010-项目11)、香港特别行政区政府创新科技署的Health@InnoHK项目、香港特别行政区政府研究资助局的一般研究基金(批准号: 17105420、17113724)以及合作研究基金(批准号: C7042-21G)资助的课题

*通信作者。Tel: 00852-22552584, E-mail: jiezhou@hku.hk; Tel: 00852-22552576, E-mail: licun@hku.hk

Received: June 17, 2025

Accepted: July 18, 2025

This work was supported by the National Key R&D Program of Ministry of Science and Technology, PR China (Grant No.2021YFC0866100); the Commissioned Program for Control of Infectious Diseases (Grant No.CID-HKU1-3), and the Commissioned Research on the Novel Coronavirus Disease (Grant No.COVID1903010-project 11) of the Food and Health Bureau of the HKSAR Government; the Health@InnoHK, Innovation and Technology Commission, of the HKSAR Government; the General Research Fund (Grant No.17105420, 17113724), and the Collaborative Research Fund (Grant No.C7042-21G) of the Research Grants Council of HKSAR Government

*Corresponding authors. Tel: +852-22552584, E-mail: jiezhou@hku.hk; Tel: +852-22552576, E-mail: licun@hku.hk

Respiratory Organoids and Organoid-Based Investigations of Respiratory Viruses

WAN Zhixin, ZHOU Jie*, LI Cun*

(Li Ka Shing Faculty of Medicine, the University of Hong Kong, Hong Kong 999077, China)

Abstract Respiratory viral infectious diseases pose a significant threat to global public health, yet traditional cell lines and animal models exhibit limitations in simulating infection mechanisms and drug evaluation. This review systematically elaborates on adult stem cell-derived respiratory organoids, including the establishment of nasal, airway, and alveolar organoids, as well as their groundbreaking applications in virus research. Respiratory organoids, established through three-dimensional culture and cocktail medium supplemented with niche factors, adequately recapitulate the cellular composition and most functions of the respiratory epithelium. They have been successfully applied to investigate the infection and pathogenesis of SARS-CoV-2, influenza viruses, RSV (respiratory syncytial virus), and HRV-C (human rhinovirus C), which have revealed the transmission potential of viral variants, host immune response, and the application for antiviral screening of antiviral agents. This review also discusses the challenges and prospects of using organoids to study infectious diseases.

Keywords respiratory organoids; virus; infection

21世纪初,一系列新发人畜共患病毒对人类社会产生了重大冲击。流感病毒、埃博拉病毒、寨卡病毒以及新冠病毒(SARS-CoV-2)的出现,凸显了新发传染病对全球公共卫生体系的严峻考验。这些病毒的传播不仅直接影响了个人健康,也对全球经济和社会稳定产生了深远影响。人类活动的持续扩张正深刻改变全球生态系统,为病原体传播创造了前所未有的有利环境,显著提高了新型病毒的出现频率。科学预测表明,快速城市化进程、持续气候变化以及日益活跃的野生动物贸易等关键因素,将在未来数十年内大幅提升病毒性疾病的流行风险^[1-3]。面对这一日益严峻的全球公共卫生挑战,科学界亟需建立更精准、高效的药物和疫苗评价体系,为全球传染病防控提供强有力的科技支撑。

自20世纪初以来,细胞系一直被广泛用作病毒培养和研究的工具^[4]。这类传统细胞培养体系因其技术简易性、经济性和良好的实验兼容性等优势,始终在病毒学研究中保持着重要地位。然而,目前广泛使用的细胞系大多经过永生化处理或癌变转化,这些基因改造虽然实现了细胞的长期传代培养,但也往往伴随着先天免疫信号转导异常等关键生理功能的缺陷。细胞系与人体正常细胞之间存在的固有差异,可能导致病毒在传代过程中产生适应性突变。多项研究表明,这些适应性突变会导致病毒在受体结合特性^[5-6]、传播效率^[7]以及致病力^[8-9]等方面发生显著改变。产

生适应性突变的病毒株不能完全代表临床分离株的特征,从而会影响研究结果的代表性,并削弱其临床转化价值。为突破细胞系的局限性,科学家将注意力转移到人体来源的原代细胞。原代细胞可以直接从废弃的人体组织分离获得,保留了更接近生理状态的细胞特性,能够更真实地反映病毒感染过程中的生物学特性。然而,原代细胞的应用也面临挑战,如高质量活体组织样本获取来源稀缺,细胞体外扩增能力有限,这些因素共同制约了其在实验体系中的应用^[10]。

长期以来,传统动物模型为呼吸道病毒的基础科研和转化医学研究提供了不可或缺的平台,特别是在疫苗和抗病毒药物的临床前评价中发挥着关键作用^[11]。具有与人类高度相似生理特征的动物模型被广泛用于研究病毒性疾病的发病机制。例如,雪貂因其呼吸道在组织学和解剖学上与人类高度相似,被视为研究流感病毒传播的一个理想模型^[12]。然而,病毒-宿主互作呈现复杂的动态平衡特征,而种属间免疫应答的差异性导致动物模型难以准确再现人类特有的病毒感染特征及病理生理变化^[13-15]。需要特别指出的是,鉴于多数人类病毒具有严格的宿主特异性^[16],在异种动物模型中开展人类病毒研究往往需要进行多轮病毒适应性培养传代。这一过程可能会诱导病毒产生适应性突变,进而改变原始病毒株的关键生物学特性,最终削弱其与人类疾病的相关性和研究的临床意义^[17-18]。为应对上述挑战,

科研人员开发了转基因及人源化动物模型, 通过引入人类病毒受体或免疫相关基因, 显著提升了模型对特定病毒的易感性, 从而可以模拟人类感染特征和免疫应答机制。然而, 这些模型通常成本高昂且耗时耗力, 这限制了其在大规模研究中的应用^[19-21]。

鉴于传统实验模型在模拟人类病毒性疾病方面存在显著局限性, 开发更先进的能够反映呼吸道病毒的病毒学、病理学和免疫学特征的生理相关模型, 对于深入解析病毒感染特性、致病机制以及病毒-宿主相互作用, 进而探索新型治疗策略具有重要意义。类器官(organoid)的建立是人类生物学的重大突破, 从此打开了病原和宿主相互作用研究的新篇章。将干细胞包埋在基质胶中以三维方式培养, 在适当的生长因子作用下, 它们可以生长并自我组装成类似器官的细胞聚集体, 被称为类器官。这些类器官模拟了原生组织的细胞组成、结构和功能特性, 并在长期体外扩增培养过程中保持了基因和表型的稳定性^[22-23]。

类器官可以源自多能干细胞(pluripotent stem cell, PSC), 包括胚胎干细胞(embryonic stem cell, ESC)和诱导性多能干细胞(induced pluripotent stem cell, iPSC), 也可以来源于成体干细胞(adult stem cell, ASC)。PSC衍生类器官是通过逐步分化过程产生的, 每个阶段都需要补充特定的生长因子, 以引导细胞向目标组织中特异细胞类型分化, 这一过程既耗时又有较高技术要求^[22,24]。CLEVERS教授团队^[25]在2009年首次报道了LGR5为肠道成体干细胞的标志物, 并建立了第一个ASC来源的肠道类器官。ASC来源类器官是通过模拟成体组织或器官中组织驻留干细胞的组织更新或损伤修复过程而建立的。与PSC类器官相比, ASC上皮类器官具有更高的成熟度, 使得ASC类器官在结构和功能上更具生理相关性^[26], 从而更适合病毒与宿主相互作用的研究。我们团队利用组织来源的成体干细胞建立了从鼻黏膜、气道到肺泡覆盖完整的人类呼吸道上皮的类器官培养系统^[27-31](图1), 将整个类呼吸道上皮在实验室中高效稳定地重建和扩增。这一创新的呼吸道类器官培养系统在呼吸道感染疾病致病机制的研究和抗病毒治疗策略的开发中具有重要意义。

1 呼吸道类器官的建立与培养

人类呼吸道由两种不同类型的上皮(分别是气道上皮和肺泡上皮)组成。气道上皮覆盖从鼻腔(鼻

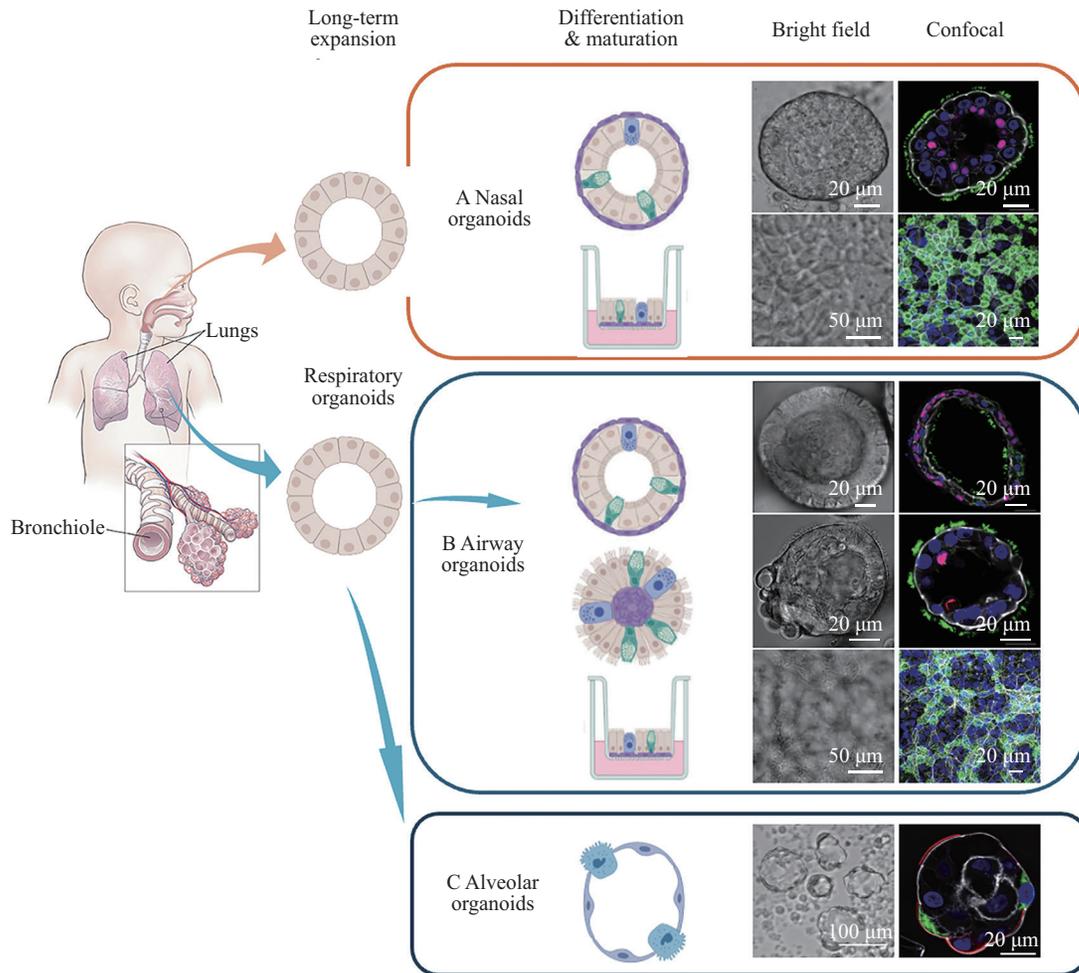
前庭除外)到终末细支气管的气道, 主要由四种类型的上皮细胞(纤毛细胞、杯状细胞、Club细胞和基底细胞)组成。这些细胞共同作用, 形成了一个有效的防御屏障, 能够清除异物并保持气道的湿润。与此不同, 人类肺泡是氧气交换的基本单位, 肺泡上皮主要由扁平的I型肺泡上皮(alveolar type 1 cell, AT1)细胞和立方形的II型肺泡上皮(alveolar type 2 cell, AT2)细胞构成。AT1细胞在气体交换中发挥着关键作用, 其扁平的形态有助于气体的快速扩散。而AT2细胞则由远端肺内胚层转分化而来, 主要功能是产生肺表面活性物质, 以防止肺泡的塌陷。此外, AT2细胞还能够调节肺泡内的水分, 并具备分化为AT1细胞的能力, 从而在肺泡的修复和再生过程中发挥重要作用^[33]。这种复杂的细胞组成和功能分化确保了呼吸系统的正常运作和有效的气体交换。

1.1 气道类器官的构建

我们团队和其他科学家利用不同生态位因子(niche factor)和生长因子, 成功从手术切除后废弃的人肺组织和支气管灌洗液样本中建立了ASC来源的类器官^[28-29]。从肺组织建立的类器官可以连续稳定传代扩增一年以上, 并可以像细胞系一样进行液氮冷冻保存^[29,34]。长期扩增培养的类器官, 在基质胶中可以自行组装成球状, 具有向内的极性结构^[29]。撤除生态位因子Noggin和R-spondin, 并加入Notch信号通路抑制剂DAPT, 可以促进类器官的近端分化。在近端分化过程中, 类器官中的纤毛细胞的比例会显著增加, 使其更能在形态和功能上模拟人体的气道黏膜上皮, 称为气道类器官(图1)^[29]。气道类器官包含四种类型的气道上皮细胞: 纤毛细胞(ciliated cell)、杯状细胞(goblet cell)、Club细胞(Club cell)和基底细胞(basal cell)。纤毛细胞通过纤毛捕获和排出病原体, 促进黏液清除, 确保呼吸道的清洁和健康。杯状细胞分泌抗菌黏液, 为黏液纤毛防御提供了重要支持。Club细胞在免疫防御中发挥着关键作用, 它们通过分泌抗炎蛋白CC16来调节免疫反应, 并通过产生新细胞促进组织修复。此外, 基底细胞具有自我更新能力, 并能够分化成各种细胞类型, 确保上皮组织的持续更新和修复^[35]。这种细胞的多样性和功能的复杂性使得气道类器官成为研究呼吸道疾病、药物反应以及组织再生的重要工具。

1.2 肺泡类器官的构建

我们团队利用持续扩增培养的肺组织来源的



A: 利用鼻拭子从下鼻甲刮取少量的上皮细胞,可高效地建立鼻黏膜类器官。这些建立的鼻黏膜类器官能够进行长期扩增培养和冻存。扩增后的鼻黏膜类器官可以通过2D和3D分化技术,获得成熟的鼻黏膜类器官。B、C: 肺组织来源的类器官同样具备连续扩增培养和冷冻保存的能力。扩增的类器官能够诱导双向分化。通过近端分化,可以获得模拟人类气道上皮形态和功能的气道类器官(B)。目前,已经建立了包括2D、3D向内和3D向外在内的三种气道类器官版本,这些版本可以灵活适用于各种实验设计。此外,肺组织来源的类器官经远端分化可建立模拟人类肺泡上皮的肺泡类器官(C)。

A: nasal organoids can be established with high efficiency from nasal epithelial cells collected from the inferior turbinate of healthy donors using a flocked swab. The derived nasal organoids are long-term expandable and can be differentiated to generate 2D and 3D mature nasal organoids that faithfully simulate the nasal epithelium. B,C: organoids can also be generated from lung tissue. The lung tissue-derived organoids can be expanded long-term and further differentiated to yield mature airway organoids, which can faithfully simulate human airway epithelium (B). Three types of airway organoids have been developed, including 2D, 3D apical-in, and 3D apical-out, which can be flexibly applied to various experimental designs. Additionally, lung tissue-derived organoids can also be induced to undergo distal differentiation (C) to alveolar organoids that mimic human alveolar epithelium.

图1 人呼吸道类器官系统的建立和培养(根据参考文献[29-32]修改)

Fig.1 Schematic diagram of the derivation, expansion, and differentiation of human respiratory organoids (modified from the references [29-32])

类器官,又探索出了远端分化的方法,从可以长期扩增培养的肺组织来源的类器官诱导出了包含AT1和AT2细胞的肺泡类器官^[31]。肺泡类器官中的AT1细胞展现出其典型的纤细形态。AT2细胞具有特征性超微结构,包括层状体和微绒毛,并拥有天然AT2细胞的生理功能^[31]。综上所述,我们建立了一个可以长期扩增的、具有双向分化潜能的呼吸道类器官培

养系统(图1)。

1.3 鼻黏膜类器官的构建

人鼻黏膜是接触和抵御病原入侵人体的第一道屏障,鼻黏膜上皮的体外模型对于深入了解人类上呼吸道的细胞生物学和病毒-宿主相互作用至关重要。我们团队^[30]和RAJAN等^[36]分别利用鼻拭子无创采集的鼻腔上皮细胞建立了鼻黏膜类器官。我们建立鼻

黏膜类器官的成功率超过95%, 并且所建立的鼻黏膜类器官能够稳定扩增超过六个月^[30]。这种可长期扩增的鼻黏膜类器官在进一步诱导后, 可以分化为成熟的鼻黏膜类器官, 其形态和功能高度模拟黏膜上皮, 即上气道上皮。虽然鼻黏膜类器官和气管类器官都包含相同的四种上皮细胞, 但是两者的基因表达谱分别代表了上气道和下气道上皮的特征^[30]。我们建立的这种“扩增-分化”分段式鼻黏膜类器官培养体系是一项具有重要意义和创新性的研究成果^[30]。这些类器官在探究上呼吸道感染的发病机制以及体外药物筛选等方面展现出巨大的应用潜力。与气管类器官的建立不同, 鼻黏膜类器官的构建可以通过植绒拭子从健康捐献者的下鼻甲获取鼻腔上皮细胞, 这一方法操作简便且无侵入性, 使得鼻黏膜类器官的研究在伦理和操作上更具优势, 为相关领域的研究提供了更为便利的实验平台。

2 呼吸道类器官在病毒感染中的应用

呼吸道病毒通过人体呼吸道上皮进入人体内, 导致多种呼吸道感染疾病。呼吸道类器官对于研究呼吸道感染疾病的致病机制和研发抗病毒治疗策略具有重要意义。近年来, 呼吸道类器官在病毒研究领域发挥了重要作用, 极大地推动了对人类呼吸道病原体感染机制的深入理解。这些模型不仅能够有效模拟病毒与宿主细胞的相互作用和感染过程, 还为评估抗病毒药物的疗效提供了理想的平台。

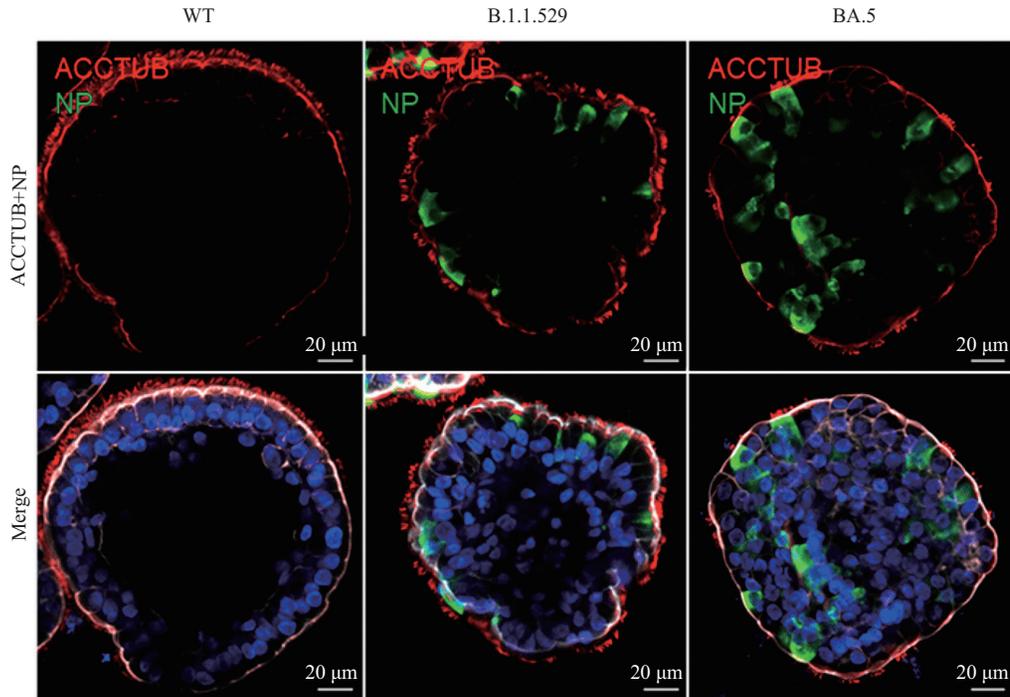
2.1 新冠病毒

COVID-19是由新冠病毒(SARS-CoV-2)引起的传染病, 常见症状包括发热、咳嗽、疲劳、呼吸困难以及味觉和嗅觉丧失。在严重的COVID-19病例中, 病毒会引起人体严重的急性呼吸综合征, 最终导致呼吸衰竭。SARS-CoV-2受体是存在于多种人类细胞类型表面的血管紧张素转化酶2(angiotensin-converting enzyme 2, ACE2)^[37]。S蛋白对于SARS-CoV-2病毒入侵宿主细胞至关重要, 其膜融合的激活依赖于S蛋白的裂解过程。该裂解由跨膜丝氨酸蛋白酶2(transmembrane serine protease 2, TMPRSS2)和组织蛋白酶L(cathepsin L)等宿主酶介导。S蛋白在裂解后被分解为两个亚基: S1和S2。经过一系列复杂的构象转变, 这两个亚基转化为活性形式, 从而介导膜融合。S1亚基携带受体结合结构域(receptor binding domain, RBD), 能够识别并结合 SARS-

CoV-2的主要受体ACE2^[38-40]。SARS-CoV-2通过呼吸道感染人体, 鼻黏膜和气管上皮则是呼吸道病毒侵入人体的第一道屏障^[41]。因此, 鼻黏膜类器官和气管类器官模型对于探究SARS-CoV-2在人群中的感染性以及致病机制至关重要。CHIU等^[30]将其构建的鼻黏膜类器官用于模拟SARS-CoV-2上呼吸道感染过程, 为评估SARS-CoV-2及其变异株的传染性提供了一个关键的生理相关模型。另外, 利用低pH值培养基模拟呼吸道微酸环境分化出的鼻黏膜类器官对SARS-CoV-2的易感性显著增强。此外, 研究还证实了Delta和Omicron变异株通过破坏纤毛细胞并损伤细胞间的紧密连接促进病毒的传播, 揭示了这两个变异株相较于其他株的高传染性。

气管上皮也是SARS-CoV-2的主要感染部位之一, 气管类器官与鼻黏膜类器官一样, 包含了人类上呼吸道的四种主要上皮细胞类型: 纤毛细胞、杯状细胞、Club细胞和基底细胞, 同时也表达SARS-CoV-2的受体ACE2和TMPRSS2, 为病毒的入侵提供了必要的条件^[29,31,42]。报道称, SARS-CoV-2的多碱基裂解位点(multibasic cleavage site, MBCS)有助于其通过TMPRSS2介导的途径进入人气道细胞^[5], 然而, 在TMPRSS2表达缺失的细胞系中, 病毒进入途径被迫转向依赖组织蛋白酶的胞吞机制。研究证实, SARS-CoV-2在自然表达TMPRSS2的人气道类器官中可以避免产生适应性变异^[5,43], 从而可以模拟病毒在人体中的真实感染过程, 有利于中和抗体和抗病毒药物的筛选。在感染初期, SARS-CoV-2病毒载量在患者的呼吸道中呈指数级增加, 并诱发鼻咽部较高水平的干扰素刺激因子(interferon-stimulating factor, ISG)的表达。气管类器官能够有效模拟SARS-CoV-2在人类呼吸道中的感染和复制过程, 并展示出突变株相较于野生型原始株具有更强的感染和复制能力^[31,41,44]。这些发现表明, SARS-CoV-2变异株的传播能力在人群中显著增强^[31,41]。此外, SARS-CoV-2感染气管类器官同样能够重现COVID-19患者呼吸道样本的转录组学特征^[45]。

人体气管上皮细胞具有极性, 其顶端表面直接接触外部刺激物, 包括灰尘和入侵的病原体等。传统基质胶培养的3D呼吸道类器官通常呈现“顶端向内”的囊腔结构。研究者需通过物理破碎或显微注射等方式暴露其顶端, 方能实现有效的病原感染。这些繁琐的操作步骤, 严重降低了基于3D类器官的



顶端向外的气道类器官分别感染SARS-CoV-2 WT、B.1.1.529和BA.5病毒后经过甲醛固定处理, 并进行免疫荧光染色。SARS-CoV-2病毒NP蛋白被标记为绿色, 纤毛细胞被标记为红色, 细胞核和细胞膜则分别被标记为蓝色和白色。

Apical-out airway organoids were infected with SARS-CoV-2 WT, B.1.1.529, and BA.5 viruses, respectively. The infected organoids were fixed and applied to immunofluorescence. SARS-CoV-2 NP protein was labeled in green, the ciliated cell was labeled red, and nuclei and cell membranes were labeled blue and white, respectively.

图2 新冠病毒B.1.1.529和BA.5变异株在顶端向外的气道类器官中具有更高的感染率(根据参考文献[32]修改)

Fig.2 SARS-CoV-2 B.1.1.529 and BA.5 showed high infection efficiency in the 3D apical-out airway organoids (modified from the reference [32])

感染实验的效率, 并阻碍了高通量药物筛选的应用。因此, 我们团队利用长期培养扩增的3D类器官诱导分化了顶端向外的3D气道类器官^[32]。顶端向外的气道类器官在形态和功能上同样可以模拟人类气道上皮, 并且便于进行病原感染实验和抗病毒药物的高通量筛选。如图2所示, 顶端向外的气道类器官能够维持SARS-CoV-2的复制, 并准确反映出Omicron BA.5和B.1.1.529变异株相较于野生型病毒株具有更高的感染性和复制适应性^[32]。

类器官不仅为解析宿主-病毒相互作用机制及病理生理过程提供了重要工具, 还在抗SARS-CoV-2药物研发中展现出了巨大的转化应用价值。具体而言, 类器官模型已成功应用于高通量药物筛选, 并鉴定出了多个能有效抑制病毒入侵^[46]和复制^[47]的候选化合物。值得注意的是, 研究者还构建了基于CRISPR/Cas9基因编辑的类器官生物样本库, 这一平台为系统筛选影响SARS-CoV-2感染的关键宿主因子提供了有力支撑^[48]。

肺泡类器官由AT1型和AT2型肺泡上皮细胞构成, 其中ACE2和TMPRSS2主要在AT2细胞的亚群中表达^[31,42]。研究人员利用人类多能干细胞衍生的肺泡类器官, 有效模拟了SARS-CoV-2感染的过程, 结果显示AT2细胞对病毒易感^[46,49]。此外, 被SARS-CoV-2感染的肺泡类器官也能够重现宿主的免疫反应^[45], 包括诱导I型和III型干扰素的表达、引发干扰素介导的炎症反应, 以及肺表面活性蛋白的丧失和细胞凋亡等生物学过程^[50-51]。我们团队利用远端分化的方法, 从可以长期扩增培养的肺组织来源的类器官诱导出包含AT1和AT2细胞的肺泡类器官^[29]。实验证实, 该模型能够支持SARS-CoV-2的感染, 但相较于气道类器官, 病毒在肺泡中的复制效率显著降低。肺泡类器官也可以用来筛选和验证抗SARS-CoV-2病毒药物的活性。HAN等^[52]利用肺泡类器官从FDA批准的药物中筛选出了三种能够阻断SARS-CoV-2感染的药物, 包括伊马替尼(imatinib)、霉酚酸(mycophenolic acid)、喹吖因二盐酸(quinacrine dihy-

drochloride)。TIWARI等^[49]发现Spike蛋白抑制剂EK1和TMPRSS2抑制剂能够有效抑制SARS-CoV-2感染肺泡类器官。此外,肺泡类器官也可以用来测试中和抗体抑制SARS-CoV-2感染的能力^[53]。

2.2 流感病毒

甲型流感病毒(influenza A virus, IAV)具有广泛的宿主范围,并具有极高的抗原变异能力,使其能够在多种动物宿主(包括人类、鸟类、马、狗和猪)中循环传播^[54]。IAV的分段基因组和低保真度RNA聚合酶,使其能够不断产生重组病毒和突变株,这些变异株有可能跨越物种壁垒,引发流行甚至全球大流行。然而,过去缺乏可靠的体外模型来预测动物携带的IAV跨物种传播至人类的风险。利用在形态和功能上高度模拟人体呼吸道的类器官,能够有效验证具有较强感染能力的人类病毒株与感染能力较差的禽类和猪亚型病毒株的复制能力^[29],其为评估和监测IAV跨物种传播提供了重要的研究工具。丝氨酸蛋白酶(如TMPRSS2、TMPRSS4、HAT和Matrilysin)能够对IAV表面的血凝素蛋白进行水解,促进病毒的感染过程。这些丝氨酸蛋白酶在气道类器官中高表达^[29],从而可以模拟病毒在呼吸道自然感染的过程,不需要像MDCK细胞系那样额外添加蛋白酶促进病毒复制。

我们团队利用分化成熟的气道类器官检测了不同来源的流感病毒株的感染和复制情况^[29]。相对于不易感染人类的禽流感病毒H7N2而言,易感染人类的H7N9禽流感病毒复制能力更强;易感染人类的H1N1流行株的病毒载量也比猪源的H1N1病毒高。研究结果充分证实了这些分化的气道器官可用于快速评估新兴呼吸道病毒对人类的感染能力^[29]。类似地,有研究比较了从人类患者中分离的高致病性禽流感病毒H5和H7病毒与人类大流行性H1N1病毒在呼吸道类器官中的复制能力及宿主先天免疫反应^[55]。结果显示,与H5亚型(H5N1)相比,H1N1和禽流感H7N9病毒在类器官中表现出更强的复制能力,而促炎细胞因子(如IL-6和IFN- β)在感染H5N1的类器官中分泌量显著增加。细胞因子失调是导致人类患者出现严重疾病表型的关键因素,这一结果揭示了H5N1高致病性的细胞生物学基础。关于H7亚型病毒,与感染较弱的H7N2病毒相比,感染人类的H7N9/Ah毒株在类器官中的复制能力更强。这一观察结果与体外人支气管外植体的研究结果一致,进一步验证了呼吸道类器

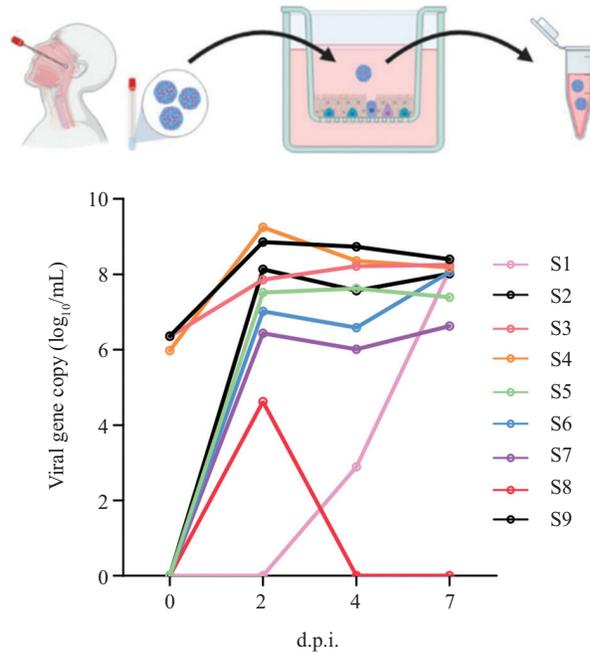
官模型的可靠性。另一项研究利用人类呼吸道类器官评估了近期高致病性禽流感病毒H5N6和H5N8分离株的跨种传播潜力^[56]。结果表明,与人类大流行的H1N1和H5N1相比,H5N6/H5N8分离株在类器官上皮细胞中的复制能力较低,表明这些毒株导致人类患严重疾病的风险较低。

综上所述,这些研究充分利用呼吸道类器官平台,系统评估了流感病毒的传播趋势及在人群中的传染潜力,为判断人畜共患禽流感病毒引发大流行的风险提供了宝贵的实验依据。这一研究方向不仅拓展了我们对流感病毒传播机制的理解,也为公共卫生策略的制定和疫苗的研发提供了坚实的科学基础。

2.3 呼吸道合胞病毒

呼吸道合胞病毒(respiratory syncytial virus, RSV)每年在全球范围内感染超过3 000万名儿童,导致320万次住院和多达20万人死亡。RSV是儿童急性下呼吸道感染(acute lower respiratory tract infection, ALRTI)的主要原因之一,约占所有ALRTI的20%^[36]。RSV感染通常始于上呼吸道,然后扩展至下呼吸道。呼吸道合胞病毒主要感染人类支气管上皮细胞中的纤毛细胞,并利用核仁素(nucleolin)作为进入的辅助受体^[57]。GRIFFITHS等^[58]的研究表明,RSV-F糖蛋白在融合前与胰岛素样生长因子-1受体(insulin-like growth factor 1 receptor, IGF1R)之间的相互作用能够激活蛋白激酶C zeta(protein kinase C zeta, PKC ζ),而在气道类器官中抑制PKC ζ 的激活可阻止核仁素对RSV病毒颗粒的转运。该研究揭示了一种RSV病毒入侵机制:病毒颗粒通过与宿主受体结合激活下游信号通路,进而促使辅助受体向细胞表面募集,最终介导病毒进入细胞。RSV感染通常呈现自上而下的传播模式,从上呼吸道逐渐进展至下呼吸道。值得注意的是,尽管下呼吸道感染并非必然发生,但阐明不同呼吸道上皮细胞对RSV感染的易感性差异及其致病机制具有重要意义。RIJSBERGEN研究团队^[59]通过对比RSV A型和B型在鼻腔、支气管及小气道类器官中的病毒复制动力学和宿主先天免疫应答,发现两种亚型虽均能在呼吸道复制,但A亚型在鼻腔和支气管上皮中表现出显著的复制优势。这一研究成果不仅证实了呼吸道类器官在RSV感染研究中的价值,更为后续探索决定RSV疾病严重程度的关键因素提供了可靠的研究平台。

RAJAN等^[36]使用鼻黏膜类器官模型揭示并比



将9份HRV-C病毒阳性的鼻咽拭子样本接种于人气道类器官中, 在感染后的不同时间点(days post-infection, d.p.i.)收集培养基。通过实时定量聚合酶链反应(RT-qPCR)技术, 检测培养基中的病毒载量。

Nine HRV-C-positive nasopharyngeal swab samples were inoculated into human airway organoids, and the culture medium was collected at different days post-infection. The viral load in the culture medium was detected by RT-qPCR technology.

图3 人类呼吸道病毒C型(HRV-C)的临床标本表现出对气道类器官的高度感染性(根据参考文献[63]修改)

Fig.3 HRV-C positive clinical specimens showed high infectivity to airway organoids (modified from the reference [63])

较了RSV与SARS-CoV-2的感染特性。SARS-CoV-2感染导致鼻黏膜类器官上皮细胞和纤毛的严重损伤, 黏液分泌极少, 且不激活I型干扰素反应。与之相反, RSV感染会诱导黏液过度分泌, 并引发强烈的III型干扰素反应, 同时伴有纤毛的损伤。SACHS等^[60]的研究也证实, 呼吸道类器官能够有效模拟RSV的感染过程, 他们首次在体外证实了病毒NS2蛋白可直接调控细胞迁移和融合过程。更重要的是, 该研究成功建立了利用类器官模型研究中性粒细胞-上皮细胞互作的新方法。

2.4 人鼻病毒

人类鼻病毒C型(human rhinovirus C, HRV-C)是一种常见的呼吸道病原体, 通常导致急性上呼吸道感染, 并与哮喘及其他慢性呼吸系统疾病的加重密切相关。自2006年首次发现该病毒以来, 研究人员已鉴定出60多种HRV-C亚型^[61]。尽管所有人鼻病毒均能感染呼吸道上皮细胞, 但HRV-C病毒利用一种独特的宿主蛋白——钙黏蛋白相关家族成员3(cadherin-related family member 3, CDHR3)来促进病毒颗粒的摄取^[62]。CDHR3的表达仅限于上、下呼吸道上皮的纤毛细胞, 这一特性限制了HRV-C病毒的细胞

趋向性。GAGLIARDI等^[62]证明HRV-C病毒的复制仅限于人类呼吸道上皮的纤毛细胞, 并且其复制过程与内质网密切相关, 导致细胞损伤和病变。这一发现揭示了HRV-C病毒在感染过程中的特异性机制, 强调了CDHR3在病毒入侵中的关键作用。然而, 由于HRV-C无法在常规细胞系中感染和复制, 长期以来缺乏有效的病毒培养和体外研究体系。尽管有研究者尝试利用人鼻窦黏膜组织或气道原代上皮细胞进行病毒培养, 但由于组织和原代细胞获取难度大及无法连续扩增等问题, 相关研究受到极大限制。

2024年底, 我们团队利用人呼吸道类器官系统, 首次成功实现了HRV-C的连续传代培养, 并进一步揭示了病毒与宿主之间的相互作用机制^[63]。如图3所示, 团队首先成功使用气道类器官从确诊患者的鼻咽拭子样本中分离出HRV-C, 成功率高达88.9%。我们将从气道类器官中获得的第一代病毒样本作为连续传代的接种材料。结果显示, 尽管气道类器官能够从样本中分离到病毒, 但却无法支持HRV-C的连续传代。随后我们发现在小分子化合物介导的免疫抑制条件下, 气道类器官才能支持HRV-C的连续传代。相比之下, 鼻黏膜类器官则可在无需任何

干预的情况下实现稳定传代。基于呼吸道类器官对HRV-C的高易感性, 团队进一步探索了该模型在抗体和药物筛选中的应用。结果证实, 阻断CDHR3受体可显著抑制HRV-C的复制; 此外, 抗病毒药物芦平曲韦(rupintrivir)和伊曲康唑(itraconazole)在类器官中对HRV-A和HRV-C的复制均表现出有效抑制, 且对HRV-C的抑制效果明显优于HRV-A。我们还开发了一种基于类器官的HRV-C病毒滴度的定量方法。该方法利用呼吸道类器官对HRV-C的高度易感性, 通过免疫荧光染色和高通量共聚焦成像, 能够准确确定HRV-C的感染性粒子数量。这些结果表明, 这一全新的基于呼吸道类器官的HRV-C感染模型为疫苗和抗病毒药物的研究与开发提供了新的思路, 具有重要的临床应用价值。

3 类器官在病毒学研究中的挑战和展望

类器官作为一种新兴的生物学模型, 在病毒研究领域具有革命性意义, 其正在成为科学家研究病原微生物与宿主相互作用的重要工具。类器官的优势在于其与人体组织功能和生理高度相关, 通过构建类器官与病毒及其他病原微生物的感染模型, 科学家能够揭示宿主识别、病原入侵及其相互作用的关键通路和蛋白分子, 从而加速新疗法的研发和临床应用。此外, 类器官还可用于探究个体遗传学差异与病原感染之间的关系, 以及评估动物病毒的人畜共患病潜力等。因此, 类器官不仅为基础研究提供了新的实验平台, 还在个性化预防、诊断和治疗传染病方面展现出广阔的前景。虽然类器官在病毒学领域有巨大的潜力, 但类器官技术仍处于新兴阶段, 面临诸多需要解决的问题和挑战。

3.1 类器官标准化培养

类器官的培养依赖于多种细胞生长因子和基质胶, 从而模拟细胞在体内的生理环境, 旨在长期维持适当的细胞组成和功能。类器官的培养系统因其复杂性, 成本高于传统细胞系培养。因此, 许多实验室会选择特定品牌的生长因子和细胞外基质胶, 或者自行开发类器官培养基来优化类器官的培养体系。这些策略旨在平衡实验成本与培养系统的可控性, 但是这将会导致培养的类器官在细胞组成上的差异^[64]。近10多年, 科学家针对不同类器官已发展出多种差异化培养基和培养方案^[65]。此外, 供体组织来源的生物学差异(遗传背景等)与类器官培养体

系异质性相互叠加, 将会进一步放大这种差异性, 最终影响药物筛选或疾病建模的可重复性^[64]。标准化的不足和差异化的培养方案, 影响了基于类器官的应用和可靠性。因此, 持续优化培养基配方并推动其标准化, 是实现类器官在形态和功能上更接近体内组织的关键。

3.2 新型类器官模型的建立

随着类器官平台在病毒性疾病体外建模中的应用日益普及, 深入理解不同类型类器官的优势与局限性变得尤为关键, 以便提高模型的生理相关性, 提升研究成果的转化价值。例如, 来源于成体组织的ASC衍生类器官能够高度模拟成体组织上皮的结构和功能, 并在整个传代过程中稳定地保留原始组织的表观遗传特征^[66]。这使得它们能够模拟不同遗传背景和疾病状态下的组织上皮对病毒感染的反应。然而, ASC类器官通常缺乏上皮表型以外的微环境要素, 包括基质、免疫和血管微环境, 这限制了其在研究病毒与微环境相互作用方面的应用。相较而言, 来源于PSC的类器官在培养难以获得组织来源的类器官(如脑类器官)方面具有重要价值。此外, PSC衍生的类器官通常包含上皮和间质, 这使得它们比ASC衍生的类器官更为复杂, 能够支持研究病毒感染期间的上皮-间质相互作用。这种复杂性为研究病毒如何在不同细胞类型之间传播提供了更为丰富的实验环境。然而, 即使在完全分化状态下, PSC模型通常仍保留胚胎性的细胞表型, 这在一定程度上限制了其在探究成体组织中病毒-宿主相互作用的应用^[67-68]。

另外, ASC和PSC模型的一个共同缺点是普遍缺乏免疫细胞群, 而免疫细胞在病毒性疾病建模中至关重要。过度炎症或功能失调的免疫反应在诱导宿主损伤方面, 往往发挥着与直接感染同等或更为重要的作用^[69-70]。目前, 虽然现有类器官模型尚不能完全模拟病毒感染引发的高炎症反应特征, 但越来越多的研究团队正致力于开发整合免疫细胞的呼吸道类器官共培养系统。比如将鼻黏膜上皮细胞与人外周血单核细胞(peripheral blood mononuclear cell, PBMC)共培养, 该模型为深入研究H3N2流感病毒感染过程中上皮细胞与免疫细胞的动态互作机制提供了关键实验平台。研究发现, 单核细胞、自然杀伤细胞(natural killer cell, NK)和先天性T细胞在病毒感染早期最先被激活^[71]。另外, 通过Transwell将培养中的上皮细胞与PBMC隔开, 研究人员能够阻止病毒对PBMC的直接

感染,从而识别由受感染上皮细胞释放的可溶性因子所引发的免疫反应。此外,研究人员还建立了人肺类器官与中性粒细胞的共培养体系^[60],以研究炎症背景下中性粒细胞的迁移模式。该研究探讨了在RSV感染期间的中性粒细胞-上皮相互作用,表明细胞因子如IP-10和RANTES在感染早期对白细胞的募集发挥着关键作用。

随着免疫共培养类器官系统的发展,这些系统越来越多地被纳入病毒性疾病的研究中。然而,必须考虑到个体间对病毒感染的免疫反应存在高度差异,这种差异往往取决于个体的免疫历史^[72]。为此,可以利用由患者组织和配对血液样本构建的个体化共培养平台,以更准确地模拟特定个体的免疫反应。此外,未来对病毒感染免疫反应的研究需要优化共培养系统,以忠实地重现感染期间免疫细胞的状态,包括确保免疫细胞在体外培养环境中的长期存活和功能保持,从而实现对免疫反应全过程的细致观察和深入分析。这将有助于揭示不同个体对病毒感染的差异化反应,为个性化治疗策略的制定提供重要依据。

3.3 类器官高通量筛选平台

开发基于类器官技术的高通量平台是另一个关键挑战。将类器官技术应用于工业化与商业化转化(例如抗病毒药物筛选),关键在于同步推进标准化培养体系与规模化筛选平台的协同发展。当前科学家基本都是在24孔培养板中进行类器官培养。为了有效扩大类器官的应用范围,迫切需要建立稳定高效的适合类器官培养的微孔板(如96孔、384孔等)培养方案,以促进药物和抗体高通量筛选平台的建立。此外,还需要开发与类器官高通量筛选平台匹配的自动化培养系统、标准化质控体系以及数据处理和分析系统。通过自动化培养设备,可以实现类器官的标准化培养和动态监测,减少人工操作带来的误差;利用高内涵成像建立标准化质量控制体系,确保类器官的细胞组成和功能与体内组织一致;最后通过AI和数据分析技术,处理高通量数据以优化筛选流程并提高结果的准确性。这些技术创新不仅可推动类器官在商业领域的规模化应用,还能为个性化医疗提供新的解决方案,例如快速筛选个体化治疗方案。为此,学术界和产业界应密切合作,共同开发通用的高通量筛选标准和技术平台,推动类器官技术向更广泛的应用迈进。一项利用384孔板培

养的人类PSC衍生肺类器官进行抗病毒筛选的研究,成功鉴定出多种FDA批准的药物,如伊马替尼和霉酚酸,能够有效抑制SARS-CoV-2的入侵^[46]。这一发现不仅凸显了类器官在药物筛选中的巨大潜力,也为快速评估现有药物在新兴病毒感染中的疗效提供了新的思路。

尽管在技术和实际应用方面仍存在诸多挑战,但类器官作为模拟人体组织的先进模型,已然成为研究病原微生物与宿主细胞相互作用,以及感染性疾病发生发展的最优选择。它们在结构和功能上更贴近真实人体组织,明显优于传统的二维细胞培养系统和其他实验模型,是研究病毒感染机制、传播途径与致病过程的强大工具。随着科学界对类器官的研究不断深入,未来其在解析传染性病原体与宿主组织之间相互作用的分子机制方面的能力将得到显著提升,为新药筛选、疫苗开发以及抗病毒策略提供更加精准和高效的平台。同时,类器官还将在病毒变异、耐药性研究中发挥关键作用,帮助科学家更好地追踪病毒的演化路径,预测未来可能出现的变异株,为公共卫生应对策略提供科学依据。此外,类器官在研究病毒与宿主免疫系统的复杂交互、疫苗的评估以及药物的毒性和有效性测试方面也展现出巨大潜力。随着器官芯片技术的发展,类器官与微流控系统的结合,将进一步提高类器官与病毒研究的细致程度和复杂性,使病毒学研究更趋精准。总的来说,类器官技术的不断突破和创新,将极大推动呼吸道病毒的基础研究和临床转化,为公共健康事业提供更为坚实的科学支撑。未来,随着多学科的融合发展,类器官有望在病毒学、免疫学、药理学等领域引领一场新的科研变革,为应对全球性传染病挑战提供强有力的技术保障。

参考文献 (References)

- [1] RULLI M C, D'ODORICO P, GALLI N, et al. Land-use change and the livestock revolution increase the risk of zoonotic coronavirus transmission from rhinolophid bats [J]. *Nat Food*, 2021, 2(6): 409-16.
- [2] CARLSON C J, ALBERY G F, MEROW C, et al. Climate change increases cross-species viral transmission risk [J]. *Nature*, 2022, 607(7919): 555-62.
- [3] JONES K E, PATEL N G, LEVY M A, et al. Global trends in emerging infectious diseases [J]. *Nature*, 2008, 451(7181): 990-3.
- [4] SCHERER W F, SYVERTON J T. Studies on the propagation *in vitro* of poliomyelitis viruses. III. The propagation of poliomyeli-

- tis viruses in tissue cultures devoid of nerve cells [J]. *J Exp Med*, 1952, 95(5): 389-400.
- [5] LAMERS M M, MYKITYN A Z, BREUGEM T I, et al. Human airway cells prevent SARS-CoV-2 multibasic cleavage site cell culture adaptation [J]. *eLife*, 2021, 10: e66815.
- [6] SASAKI M, UEMURA K, SATO A, et al. SARS-CoV-2 variants with mutations at the S1/S2 cleavage site are generated *in vitro* during propagation in TMPRSS2-deficient cells [J]. *PLoS Pathog*, 2021, 17(1): e1009233.
- [7] LE SAGE V, KORMUTH K A, NTURIBI E, et al. Cell-culture adaptation of H3N2 influenza virus impacts acid stability and reduces airborne transmission in ferret model [J]. *Viruses*, 2021, 13(5): 719.
- [8] JOHNSON B A, XIE X, BAILEY A L, et al. Loss of furin cleavage site attenuates SARS-CoV-2 pathogenesis [J]. *Nature*, 2021, 591(7849): 293-9.
- [9] BANKAMP B, FONTANA J M, BELLINI W J, et al. Adaptation to cell culture induces functional differences in measles virus proteins [J]. *Virol J*, 2008, 5: 129.
- [10] HAYFLICK L, MOORHEAD P S. The serial cultivation of human diploid cell strains [J]. *Exp Cell Res*, 1961, 25: 585-621.
- [11] MUNOZ-FONTELA C, DOWLING W E, FUNNELL S G P, et al. Animal models for COVID-19 [J]. *Nature*, 2020, 586(7830): 509-15.
- [12] MARGINE I, KRAMMER F. Animal models for influenza viruses: implications for universal vaccine development [J]. *Pathogens*, 2014, 3(4): 845-74.
- [13] MAK I W, EVANIEW N, GHERT M. Lost in translation: animal models and clinical trials in cancer treatment [J]. *Am J Transl Res*, 2014, 6(2): 114-8.
- [14] WARREN H S, TOMPKINS R G, MOLDAWER L L, et al. Mice are not men [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2015, 112(4): E345.
- [15] REDDEHASE M J, LEMMERMANN N A W. Mouse model of cytomegalovirus disease and immunotherapy in the immunocompromised host: predictions for medical translation that survived the “test of time” [J]. *Viruses*, 2018, 10(12): 693.
- [16] ROTHENBURG S, BRENNAN G. Species-specific host-virus interactions: implications for viral host range and virulence [J]. *Trends Microbiol*, 2020, 28(1): 46-56.
- [17] GU H, CHEN Q, YANG G, et al. Adaptation of SARS-CoV-2 in BALB/c mice for testing vaccine efficacy [J]. *Science*, 2020, 369(6511): 1603-7.
- [18] CHAN M, LEUNG A, GRIFFIN B D, et al. Generation and characterization of a mouse-adapted Makona variant of Ebola virus [J]. *Viruses*, 2019, 11(11): 987.
- [19] MENACHERY V D, YOUNT B L Jr, SIMS A C, et al. SARS-like WIV1-CoV poised for human emergence [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2016, 113(11): 3048-53.
- [20] SUN S H, CHEN Q, GU H J, et al. A mouse model of SARS-CoV-2 infection and pathogenesis [J]. *Cell Host Microbe*, 2020, 28(1): 124-33.e4.
- [21] CHU H, CHAN J F, YUEN K Y. Animal models in SARS-CoV-2 research [J]. *Nat Methods*, 2022, 19(4): 392-4.
- [22] CLEVERS H. Modeling development and disease with organoids [J]. *Cell*, 2016, 165(7): 1586-97.
- [23] FATEHULLAH A, TAN S H, BARKER N. Organoids as an *in vitro* model of human development and disease [J]. *Nat Cell Biol*, 2016, 18(3): 246-54.
- [24] TAKAHASHI K, YAMANAKA S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors [J]. *Cell*, 2006, 126(4): 663-76.
- [25] SATO T, VRIES R G, SNIPPERT H J, et al. Single Lgr5 stem cells build crypt-villus structures *in vitro* without a mesenchymal niche [J]. *Nature*, 2009, 459(7244): 262-5.
- [26] BLUTT S E, ESTES M K. Organoid models for infectious disease [J]. *Annu Rev Med*, 2022, 73: 167-82.
- [27] HUANG S X, ISLAM M N, O'NEILL J, et al. Efficient generation of lung and airway epithelial cells from human pluripotent stem cells [J]. *Nat Biotechnol*, 2014, 32(1): 84-91.
- [28] SACHS N, PAPASPYROPOULOS A, ZOMER-VAN OMMEN D D, et al. Long-term expanding human airway organoids for disease modeling [J]. *EMBO J*, 2019, 38(4): e100300.
- [29] ZHOU J, LI C, SACHS N, et al. Differentiated human airway organoids to assess infectivity of emerging influenza virus [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2018, 115(26): 6822-7.
- [30] CHIU M C, LI C, LIU X, et al. Human nasal organoids model SARS-CoV-2 upper respiratory infection and recapitulate the differential infectivity of emerging variants [J]. *mBio*, 2022, 13(4): e0194422.
- [31] CHIU M C, LI C, LIU X, et al. A bipotential organoid model of respiratory epithelium recapitulates high infectivity of SARS-CoV-2 Omicron variant [J]. *Cell Discov*, 2022, 8(1): 57.
- [32] CHIU M C, ZHANG S, LI C, et al. Apical-out human airway organoids modeling SARS-CoV-2 infection [J]. *Viruses*, 2023, 15(5): 1166.
- [33] ZEPP J A, MORLEY M P, LOEBEL C, et al. Genomic, epigenomic, and biophysical cues controlling the emergence of the lung alveolus [J]. *Science*, 2021, 371(6534): eabc3172.
- [34] LI C, CHIU M C, YU Y, et al. Establishing human lung organoids and proximal differentiation to generate mature airway organoids [J]. *J Vis Exp*, 2022, doi: 10.3791/63684.
- [35] DAVIS J D, WYPYCH T P. Cellular and functional heterogeneity of the airway epithelium [J]. *Mucosal Immunol*, 2021, 14(5): 978-90.
- [36] RAJAN A, WEAVER A M, ALOISIO G M, et al. The human nose organoid respiratory virus model: an *ex vivo* human challenge model to study respiratory syncytial virus (RSV) and severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) pathogenesis and evaluate therapeutics [J]. *mBio*, 2021, 13(1): e0351121.
- [37] LAN J, GE J, YU J, et al. Structure of the SARS-CoV-2 spike receptor-binding domain bound to the ACE2 receptor [J]. *Nature*, 2020, 581(7807): 215-20.
- [38] JACKSON C B, FARZAN M, CHEN B, et al. Mechanisms of SARS-CoV-2 entry into cells [J]. *Nat Rev Mol Cell Bio*, 2022, 23(1): 3-20.
- [39] YAN W, ZHENG Y, ZENG X, et al. Structural biology of SARS-CoV-2: open the door for novel therapies [J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2022, 7(1): 26.
- [40] HOFFMANN M, KLEINE-WEBER H, SCHROEDER S, et al. SARS-CoV-2 cell entry depends on ACE2 and TMPRSS2 and is blocked by a clinically proven protease inhibitor [J]. *Cell*, 2020, 181(2): 271-80.e8.
- [41] LI C, HUANG J, YU Y, et al. Human airway and nasal or-

- ganoids reveal escalating replicative fitness of SARS-CoV-2 emerging variants [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2023, 120(17): e2300376120.
- [42] EKANGER C T, ZHOU F, BOHAN D, et al. Human organotypic airway and lung organoid cells of bronchiolar and alveolar differentiation are permissive to infection by influenza and SARS-CoV-2 respiratory virus [J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2022, 12: 841447.
- [43] MYKYTYN A Z, BREUGEM T I, RIESEBOSCH S, et al. SARS-CoV-2 entry into human airway organoids is serine protease-mediated and facilitated by the multibasic cleavage site [J]. *eLife*, 2021, 10: e64508.
- [44] DENG X, GARCIA-KNIGHT M A, KHALID M M, et al. Transmission, infectivity, and neutralization of a spike L452R SARS-CoV-2 variant [J]. *Cell*, 2021, 184(13): 3426-37, e8.
- [45] TINDLE C, FULLER M, FONSECA A, et al. Adult stem cell-derived complete lung organoid models emulate lung disease in COVID-19 [J]. *eLife*, 2021, 10: e66417.
- [46] HAN Y, DUAN X, YANG L, et al. Identification of SARS-CoV-2 inhibitors using lung and colonic organoids [J]. *Nature*, 2021, 589(7841): 270-5.
- [47] MULAY A, KONDA B, GARCIA G Jr, et al. SARS-CoV-2 infection of primary human lung epithelium for COVID-19 modeling and drug discovery [J]. *Cell Rep*, 2021, 35(5): 109055.
- [48] BEUMER J, GEURTS M H, LAMERS M M, et al. A CRISPR/Cas9 genetically engineered organoid biobank reveals essential host factors for coronaviruses [J]. *Nat Commun*, 2021, 12(1): 5498.
- [49] TIWARI S K, WANG S, SMITH D, et al. Revealing tissue-specific SARS-CoV-2 infection and host responses using human stem cell-derived lung and cerebral organoids [J]. *Stem Cell Reports*, 2021, 16(3): 437-45.
- [50] HUANG J, HUME A J, ABO K M, et al. SARS-CoV-2 infection of pluripotent stem cell-derived human lung alveolar type 2 cells elicits a rapid epithelial-intrinsic inflammatory response [J]. *Cell Stem Cell*, 2020, 27(6): 962-73, e7.
- [51] LAMERS M M, VAN DER VAART J, KNOOPS K, et al. An organoid-derived bronchioalveolar model for SARS-CoV-2 infection of human alveolar type II-like cells [J]. *EMBO J*, 2021, 40(5): e105912.
- [52] HAN Y, DUAN X, YANG L, et al. Identification of SARS-CoV-2 inhibitors using lung and colonic organoids [J]. *Nature*, 2021, 589(7841): 270-5.
- [53] PEI R, FENG J, ZHANG Y, et al. Host metabolism dysregulation and cell tropism identification in human airway and alveolar organoids upon SARS-CoV-2 infection [J]. *Protein Cell*, 2021, 12(9): 717-33.
- [54] MEDINA R A, GARCIA-SASTRE A. Influenza A viruses: new research developments [J]. *Nat Rev Microbiol*, 2011, 9(8): 590-603.
- [55] HUI K P Y, CHING R H H, CHAN S K H, et al. Tropism, replication competence, and innate immune responses of influenza virus: an analysis of human airway organoids and *ex-vivo* bronchus cultures [J]. *Lancet Respir Med*, 2018, 6(11): 846-54.
- [56] BUI C H T, KUOK D I T, YEUNG H W, et al. Risk assessment for highly pathogenic avian influenza A (H5N6/H5N8) clade 2.3.4.4 viruses [J]. *Emerg Infect Dis*, 2021, 27(10): 2619-27.
- [57] TAYYARI F, MARCHANT D, MORAES T J, et al. Identification of nucleolin as a cellular receptor for human respiratory syncytial virus [J]. *Nat Med*, 2011, 17(9): 1132-5.
- [58] GRIFFITHS C D, BILAWCHUK L M, MCDONOUGH J E, et al. IGF1R is an entry receptor for respiratory syncytial virus [J]. *Nature*, 2020, 583(7817): 615-9.
- [59] RIJSBERGEN L C, LAMERS M M, COMVALIUS A D, et al. Human respiratory syncytial virus subgroup A and B infections in nasal, bronchial, small-airway, and organoid-derived respiratory cultures [J]. *mSphere*, 2021, 6(3): e00237-21.
- [60] SACHS N, PAPASPYROPOULOS A, ZOMER-VAN OMMEN D D, et al. Long-term expanding human airway organoids for disease modeling [J]. *EMBO J*, 2019, 38(4): e100300.
- [61] COX D W, BIZZINTINO J, FERRARI G, et al. Human rhinovirus species C infection in young children with acute wheeze is associated with increased acute respiratory hospital admissions [J]. *Am J Resp Crit Care*, 2013, 188(11): 1358-64.
- [62] GAGLIARDI T B, GOLDSTEIN M E, SONG D, et al. Rhinovirus C replication is associated with the endoplasmic reticulum and triggers cytopathic effects in an *in vitro* model of human airway epithelium [J]. *PLoS Pathog*, 2022, 18(1): e1010159.
- [63] LI C, YU Y, WAN Z, et al. Human respiratory organoids sustained reproducible propagation of human rhinovirus C and elucidation of virus-host interaction [J]. *Nat Commun*, 2024, 15(1): 10772.
- [64] SRIDHAR A, SIMMINI S, RIBEIRO C M S, et al. A perspective on organoids for virology research [J]. *Viruses*, 2020, 12(11): 1341.
- [65] LANCASTER M A, HUCH M. Disease modelling in human organoids [J]. *Dis Model Mech*, 2019, 12(7): dmm039347.
- [66] HUCH M, GEHART H, VAN BOXTEL R, et al. Long-term culture of genome-stable bipotent stem cells from adult human liver [J]. *Cell*, 2015, 160(1/2): 299-312.
- [67] CAMP J G, BADSHA F, FLORIO M, et al. Human cerebral organoids recapitulate gene expression programs of fetal neocortex development [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2015, 112(51): 15672-7.
- [68] HRVATIN S, O'DONNELL C W, DENG F, et al. Differentiated human stem cells resemble fetal, not adult, beta cells [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2014, 111(8): 3038-43.
- [69] NISHIGA M, WANG D W, HAN Y L, et al. COVID-19 and cardiovascular disease: from basic mechanisms to clinical perspectives [J]. *Nat Rev Cardiol*, 2020, 17(9): 543-58.
- [70] LIU J, LI S, LIU J, et al. Longitudinal characteristics of lymphocyte responses and cytokine profiles in the peripheral blood of SARS-CoV-2 infected patients [J]. *EBioMedicine*, 2020, 55: 102763.
- [71] LUUKKAINEN A, PUAN K J, YUSOF N, et al. A co-culture model of PBMC and stem cell derived human nasal epithelium reveals rapid activation of NK and innate T cells upon influenza A virus infection of the nasal epithelium [J]. *Front Immunol*, 2018, 9: 2514.
- [72] ROUSE B T, SEHRAWAT S. Immunity and immunopathology to viruses: what decides the outcome [J]? *Nat Rev Immunol*, 2010, 10(7): 514-26.