

周鹏博士, 广州国家实验室研究员, 国家优秀青年科学基金、国家杰出青年科学基金获得者, 获评国家百千万人才工程“有突出贡献中青年专家”、“长江学者奖励计划”特岗学者、湖北省青年五四奖章等。主要聚焦于冠状病毒跨物种感染研究, 近年来在动物来源的新发病毒发现、跨种传播的预警及机制研究方向取得一系列原创性、引领性成果, 代表性成果包括: (1) 鉴定了引发新冠疫情的病原为极可能来自于蝙蝠的新型新型冠状病毒SARS-CoV-2, 并完成了一系列疫情攻关项目; (2) 发现了源于蝙蝠的新型MERS样、SADS冠状病毒在穿山甲或家猪中流行等一系列新发跨种但尚未感染人的事件, 揭示了冠状病毒跨种传播的潜在途径; (3) 初步揭示了蝙蝠长期携带病毒而不发病的独特机制。近年以第一作者/通信作者身份在*Nature*(2018、2020)等发表论文40余篇, 其中以最后通信作者身份在*Cell*、*Cell Host Microbe*、*mBio*等发表论文15篇, 累计他引超1.8万次。

类器官在冠状病毒跨种风险评估中的应用与展望

蒋人地^{1,2} 周鹏^{3,4*}

(¹粤港澳大湾区精准医学研究院(广州), 广州 511458; ²复旦大学附属中山医院, 上海 200438;

³广州国家实验室, 广州 510005; ⁴广州医科大学附属第一医院, 呼吸疾病国家重点实验室, 广州 510182)

摘要 新发传染病(emerging infectious diseases, EIDs)的频繁暴发持续威胁全球公共卫生安全。研究表明, 约70%的人畜共患EIDs事件源于野生动物携带的病原体。随着人类活动范围持续扩张及与野生动物接触机会显著增加, 动物来源冠状病毒突破物种屏障感染人类并引发大流行的风险持续攀升。因此, 建立覆盖广泛、高效且精准的冠状病毒跨种传播风险评估与预警体系, 为预防未来“X疾病”(disease X)至关重要。该综述以新发传染病的动物起源为切入点, 聚焦类器官技术在病原学研究领域所带来的革命性突破, 阐述并总结了类器官模型在冠状病毒跨种传播风险评估及其关键机制解析中的创新应用策略与成果。此外, 该文深入剖析了当前类器官模型在跨种感染研究中面临的主要挑战, 并前瞻性展望了其未来的发展方向与转化应用前景。

关键词 新发传染病; 类器官; 跨种感染; 风险评估

Organoid in Coronavirus Cross-Species Risk Assessment: Current Applications and Future Perspectives

JIANG Rend^{1,2}, ZHOU Peng^{3,4*}

(¹Greater Bay Area Institute of Precision Medicine (Guangzhou), Guangzhou 511458, China; ²Zhongshan Hospital, Fudan University, Shanghai 200438, China; ³Guangzhou National Laboratory, Guangzhou 510005, China; ⁴the First Affiliated Hospital of Guangzhou Medical University, State Key Laboratory of Respiratory Disease, Guangzhou 510182, China)

收稿日期: 2025-07-13 接受日期: 2025-08-19

国家重点研发计划(批准号: 2023YFC2605500)、广州国家实验室专项项目(批准号: GZNL2024A01019)和中国博士后科学基金(批准号: 2025M772635)资助的课题

*通信作者。Tel: 020-37103057, E-mail: zhou_peng@gzlab.ac.cn

Received: July 13, 2025 Accepted: August 19, 2025

This work was supported by the National Key R&D Program of China (Grant No.2023YFC2605500), the Major Project of Guangzhou National Laboratory (Grant No.GZNL2024A01019) and the China Postdoctoral Science Foundation (Grant No.2025M772635)

*Corresponding author. Tel: +86-20-37103057, E-mail: zhou_peng@gzlab.ac.cn

Abstract EIDs (emerging infectious diseases) pose an ongoing threat to global public health. Epidemiological evidence indicates that approximately 70% of zoonotic EIDs originate from wildlife. As human activities expand and interactions with wildlife intensify, the risk of animal-origin coronaviruses crossing species barriers to humans and trigger pandemics significantly increased. Therefore, establishing comprehensive, efficient, and precise coronavirus cross-species transmission risk assessment and early-warning systems is critical for preventing future “disease X”. This review begins with the zoonotic origins of EIDs and highlights groundbreaking advances in organoid technology in pathogen research. The innovative applications and key achievements of organoid models in predicting coronavirus cross-species transmission risks and elucidating underlying mechanisms are systematically elaborated and summarized. Furthermore, this review critically analyzes major technical challenges facing organoid models in cross-species infection research and prospectively discusses their future development trajectories and translational potentials.

Keywords emerging infectious diseases; organoid; cross-species transmission; risk assessment

病毒跨种传播是引发新发传染病(emerging infectious diseases, EIDs)的主要途径,对人类健康和公共卫生安全构成持续威胁。当下对未来可能暴发的X疾病研究侧重于新病原的发现和挖掘,而现行实验室层面评估病毒跨种感染风险的通行策略和技术手段无法应对爆发式增长的新病原信息。建立高通量且准确的病毒跨种风险评估体系是对X疾病“早预警”和“早准备”的关键。传统研究模型如动物模型和细胞系在病毒跨种研究中存在物种差异大、伦理限制、难以模拟感染条件下复杂微环境等局限性。近年来,类器官技术迅猛发展,其高度模拟组织器官的三维结构、细胞多样性和生理功能,为病毒学研究提供了革命性的体外平台。本文回顾了EIDs的主要起源、类器官技术的发展历程及其在评估冠状病毒跨种感染风险中的创新应用,包括宿主范围预测、组织嗜性评估、固有免疫应答研究以及抗病毒药物筛选等。尽管在血管化、免疫微环境模拟、标准化等方面仍面临挑战,但随着免疫化类器官、生物库建设及与人工智能融合等技术的发展,类器官模型有望成为未来病毒跨种风险评估、致病机制研究和防控策略制定的核心工具。本文旨在总结现有成果,分析当前挑战,并展望该领域的未来发展方向。

1 新发传染病的动物起源

二十世纪以来,EIDs出现的频率持续升高,对全球经济及公共卫生安全造成了重大负担。以病毒性EIDs为例,埃博拉病毒(Ebola virus, EBoV)、人免疫缺陷病毒(human immunodeficiency virus, HIV)和新冠

病毒(severe acute respiratory syndrome coronavirus-2, SARS-CoV-2)等病毒的出现和流行造成了数以万计患者的死亡和难以估量的经济损失。X疾病概念的提出反映了科学界对下一次大流行病的担忧以及迫切希望进行深入研究的态度。研究表明,约60%的EIDs事件由人畜共患病病原体引起^[1]。值得关注的是,人畜共患EIDs事件中约70%起源于野生动物携带的病原^[2]。例如EBoV自被发现以来已在非洲大陆上引发过近20次疫情,流行病学研究表明EBoV起源于该地区的果蝠种群^[3-4]。随着全球化和城市化进程加速,人类或家养动物与野生动物接触并暴露于其携带病毒的风险也持续增加。MURRAY等^[5]利用生物地理学研究方法对流行病学、环境、地理和社会等因素的空间模式相关性进行了分析,结果表明哺乳动物生物多样性是总体上传染病共现的最强预测因素。OLIVAL等^[6]对哺乳动物宿主-病毒之间的关系进行了全面分析,证实了蝙蝠携带的人畜共患病毒比例明显高于其他哺乳动物。根据开放的蝙蝠相关病毒数据库DBatVir(<http://www.mgc.ac.cn/DBatVir/>)中收集的数据显示,目前从蝙蝠体内发现的病毒序列集中于冠状病毒科(Coronaviridae)、弹状病毒科(Rhabdoviridae)和副粘病毒科(Paramyxoviridae)等热点病原,其中冠状病毒序列超过一万条(图1)^[7]。世界卫生组织在2024年更新的流行性疾病研发蓝图中提出,全球范围内潜在病原体的数量众多,而疾病研究和开发资源有限,需要优先针对部分流行威胁最大的病毒进行研究。蓝图列举了多种RNA病毒如 β -冠状病毒属sarbecovirus被认为是具有流行或引发国际公共卫生紧急事件潜力的病原体^[8]。这些信息一方面为搭建防控X

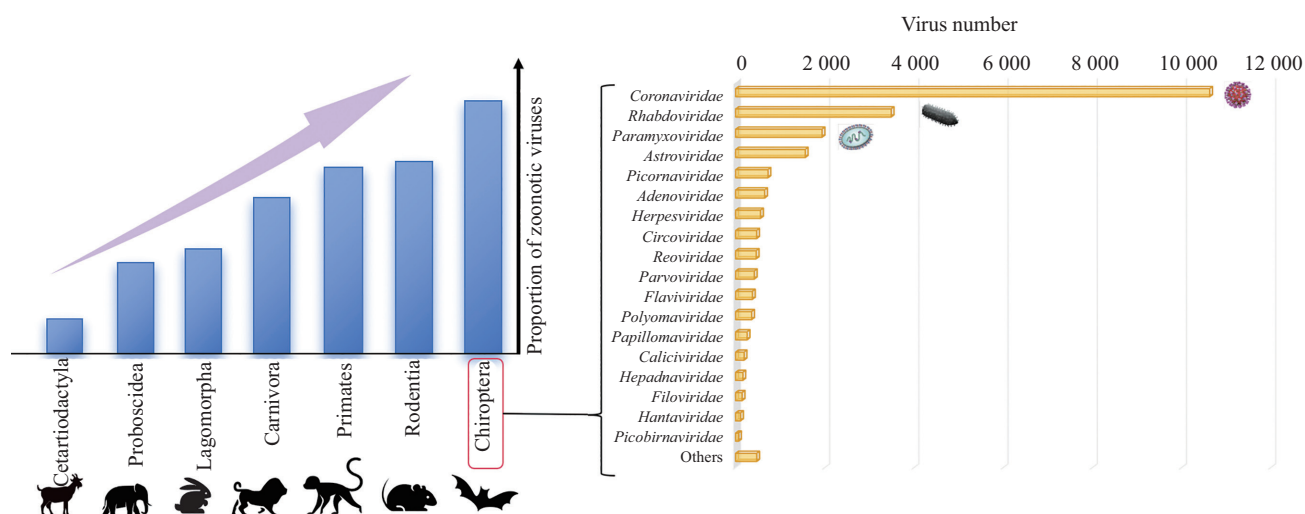


图1 哺乳动物携带人畜共患病毒比例示意图及蝙蝠中已发现病毒数量(根据参考文献[6]修改, 数据来源DBatVir数据库, 更新截至2025年6月5日)

Fig.1 The proportion of zoonotic viruses carried by mammals and the number of viruses discovered in bats (modified from reference [6], data from DBatVir database, up to June 5, 2025)

疾病“早发现, 早预警, 早准备”的科研协作网络铺垫了基础, 另一方面也对解析病毒宿主适应性规律及准确评估其跨种风险提出了更高的理论和技术要求。

2 冠状病毒概述

冠状病毒通常指套式病毒目(*Nidovirales*)、冠状病毒科(*Coronaviridae*)、正冠状病毒亚科(*Orthocoronavirinae*)所属病毒。根据遗传进化特征等差异, 冠状病毒可分为 α 、 β 、 γ 、 δ 四个属及*Sarbecovirus*等26个亚属(国际病毒分类委员会: <https://ictv.global/taxonomy>)。冠状病毒是有囊膜的单股正链RNA病毒。由于其病毒粒子通常为球形且表面镶嵌大量突起蛋白呈现“皇冠”样形态故而被称为冠状病毒^[9]。其基因组大小为26~31 Kb, 前三分之二区域编码16个与病毒复制和宿主适应性相关的非结构蛋白(non-structural protein, NSP), 后三分之一主要编码4个结构蛋白[刺突蛋白(spike, S)、囊膜蛋白(envelop, E); 膜蛋白(membrane, M)、核衣壳蛋白(nucleocapsid, N)和附属蛋白(如ORF3、ORF6等)]^[10]。其中S蛋白锚定在病毒囊膜表面, 主要负责受体识别并介导入侵, 其对于冠状病毒的宿主感染范围、组织细胞嗜性以及病毒致病性等起到至关重要的作用^[11]。冠状病毒的宿主感染范围包括人类、蝙蝠、猪等多种野生或家养哺乳动物以及鸡等禽类动物。因其主要感染呼吸道和消化道上皮细胞, 病毒常通过呼吸道或

粪口途径传播。其广泛的宿主分布为冠状病毒的跨种传播和流行提供了有利条件^[12]。目前已发现10种感染人类的冠状病毒, 包括4种人类季节性冠状病毒(hCoV-229E、hCoV-OC43、hCoV-HKU1、hCoV-NL63)、犬冠状病毒(CCoV-HuPn-2018)、猪德塔冠状病毒(PDCoV)、hCoV-KUMC22-3以及3种高致病性冠状病毒(SARS-CoV、MERS-CoV、SARS-CoV-2)^[11,13]。研究表明这些病毒很可能起源于动物携带的病毒^[14]。证据表明, S蛋白突变和病毒间频繁重组是驱动冠状病毒跨越物种屏障感染新宿主的重要因素^[15-16]。不同冠状病毒间发生重组需要共感染环境, 即2种病毒需要感染同一宿主的同一细胞。冠状病毒的基因组在双层膜囊泡(double membrane vesicles, DMV)结构中依赖复制转录复合物(replication and transcription complexes, RTC)进行复制^[17-18]。机制上, 不同冠状病毒的基因组RNA需要在相同DMV中共定位, 当RTC识别到两个基因组相似序列或相似RNA二级结构时有概率发生模板解离并交换模板延续复制过程^[9]。遗憾的是, 冠状病毒重组的分子机制尚未被完全阐明, 病毒重组事件难以预测。当下对病毒潜在风险的评估依然依赖持续的病毒监测。

3 高致病性冠状病毒起源于动物携带病毒跨种传播

我们团队长期开展冠状病毒病原发现及跨种

感染相关研究。在SARS疫情后,团队在中华菊头蝠样本中发现并分离到与SARS-CoV高度相似的WIV1等蝙蝠SARS相关冠状病毒。持续监测后发现云南某个中华菊头蝠种群中携带有与SARS-CoV流行株相似的所有必要基因元件^[20-22]。由于冠状病毒容易重组^[19],提示SARS-CoV原型株可能来源于该蝙蝠种群并经过偶然的跨种感染事件由果子狸作为中间宿主传播导致大流行。此后,中东呼吸综合征病毒(middle east respiratory syndrome coronavirus, MERS-CoV)和SARS-CoV-2的陆续暴发让全世界的眼光持续聚焦于冠状病毒,并彻底打破公众对冠状病毒致病性较低的固有印象。

MERS的流行直接来源于中东地区单峰骆驼携带的MERS-CoV^[23-24]。在追溯其起源的过程中,多个研究团队在蝙蝠中发现了遗传多样的MERS相关冠状病毒^[25-26],并发现了扁颅蝠冠状病毒HKU4及蝙蝠MERS相关冠状病毒HKU25均能使用MERS-CoV受体人二肽基多肽酶(human dipeptidyl peptidase 4, hDPP4)作为受体入侵细胞^[27],提示了MERS-CoV可能起源于蝙蝠。

新冠病毒最早报道于2019年底的武汉,随后病毒迅速扩散至全球几乎所有国家和地区^[28]。我们团队在疫情初期对SARS-CoV-2毒株进行了快速分离鉴定,证实了其属*Sarbecovirus*亚属并与SARS-CoV利用相同受体人血管紧张素转化酶2(human angiotensin-converting enzyme 2, hACE2)^[29]。据WHO发布的新冠溯源报告,与海鲜市场相关的400余份动物来源样本中均未检测到新冠病毒阳性,但在923份市场环境样本中检测到7.9%的阳性率^[30]。通过对海鲜市场环境样本的宏转录组数据进行分析,发现所有新冠阳性的样本中均可以检测到多种野生动物的线粒体DNA,其中病毒RNA与貉、果子狸、竹鼠的DNA高度共存^[31],提示新冠病毒可能通过相关野生动物作为中间宿主携带至市场导致暴发。目前已在自然界中发现多株和SARS-CoV-2相似的毒株,包括在云南地区发现的RaTG-13(相似度96.2%)、RpYN06(相似度94.5%),在老挝发现的BANAL-20-52(相似度96.8%),在柬埔寨发现的RshSTT182(相似度92.6%)等^[32-33]。除蝙蝠外,穿山甲中也分离到两株冠状病毒Pangolin-CoV-GX和Pangolin-CoV-GD,与SARS-CoV-2相似度分别仅为85.5%和90.3%^[34]。已有证据还无法准确判断SARS-CoV-2的传播链,但可

以基本确定其起源于野生动物携带的SARS相关冠状病毒。

4 冠状病毒跨种风险评估策略: 从基因型到表型

现行对新发现冠状病毒的表征模式较为固定:首先通过全基因组测序获取病毒分类和遗传进化信息,结合病毒分离和电镜拍照确定病毒的基本形态学特征;随后通过体外病毒感染以及蛋白-蛋白结合实验来判断其受体和对不同细胞系的易感性;最后建立动物感染模型判断其致病性和种间传播能力,并基于动物模型测试其对已知抗病毒药物或疫苗的敏感性^[35-36]。以SARS-CoV-2为例,病毒暴发后,我们团队在一周内对病毒全基因组完成了测序并成功分离到病毒,随后确定了SARS-CoV-2是不明原因肺炎的致病病原^[29]。之后在一个月内相继建立了多种动物感染模型^[37-38]。通过毒种资源共享,其他团队快速开展了药物筛选和疫苗研发工作,快速完成了多项疫情科技攻关任务^[39-40]。此后对其他新发现的 β 冠状病毒均采取了类似研究策略来预测其对人类的风险,并通过对病毒S蛋白与不同宿主受体蛋白相互作用关键位点的分析,在一定程度上解析了病毒基因序列与风险表型的相关性^[32,41-42]。例如蝙蝠冠状病毒RaTG13的S蛋白与hACE2的结合模式同SARS-CoV-2高度相似,并展现出广泛的多宿主ACE2结合能力。虽然RaTG13与hACE2亲和力和力远低于SARS-CoV-2,但6个关键氨基酸位点的突变(F449Y、L486F、Y493Q、Y498Q、D501N、H505Y)显著提高了RaTG13对hACE2、horseACE2、batACE2的亲合力,表明特定位点的氨基酸改变对病毒改变宿主嗜性起到关键作用^[43]。虽然病毒入侵蛋白有较为明确的基因型与感染表型相关性,但因缺乏蝙蝠病毒整体对人或其他宿主固有免疫适应性的研究,目前难以归纳出相似的相关性^[44]。这一方面与病毒包含多个拮抗宿主免疫应答蛋白增加了探索难度有关,另一方面也受限于缺乏合适感染模型,难以在真实感染场景中解析病毒-宿主相互作用。

此外,现行研究路径上存在一些潜在障碍,可能会影响对病毒风险的准确预测。其中包括病毒分离困难、大量序列难以高通量筛选、病毒受体未知、缺乏可用的细胞或动物模型等。如果新病毒与已知病毒的亲缘关系越远,做出有用预测的可能性就越

小。以sarbecovirus为例,该亚属已发现超过260条包含S序列信息的病毒,其中有约75%无法利用ACE2受体入侵细胞(包含未发表序列)^[45]。研究表明,遗传多样并广泛分布的sarbecovirus具有与蝙蝠ACE2结合的共同遗传特性,而与人ACE2结合的能力出现在SARS-CoV簇病毒RBD的直系祖先中。这一祖先同时分化出另一支丢失部分RBD序列并丧失ACE2结合能力的病毒^[46]。由于不利用经典受体,且难以分离培养,这类病毒通常被认为是低风险SARS相关冠状病毒。然而,这些病毒是否就不能感染人的呼吸道类器官还尚未可知,现有研究模式难以全面准确地衡量病毒向其他物种外溢的风险,亟需提出新的研究策略。

5 类器官技术: 病原学研究的革命性平台

5.1 病原学研究的传统实验模型

病原学研究长期以来依赖于细胞系及动物模型,然而这两类模型具有较为突出的局限性。2D细胞系是癌细胞系或永生化转化后实现长期培养,因此通常伴随固有免疫信号通路缺陷等问题。此外,由于细胞组成分单一且与体内正常细胞存在表达模式差异,在病毒培养过程中容易导致临床上病毒的弱势突变成长为优势突变,继而改变病毒整体的入侵偏好、传播能力及致病性等特征^[47-49]。动物感染模型可以模拟个体水平感染全周期的系统性变化,并在药物疫苗的临床前研究中发挥重要作用^[50-51]。但由于物种间存在固有差异,动物研究结果在临床转化时具有较高的局限性,常见模式动物难以代替病毒的真实宿主。近期美国国家卫生研究院(National Institutes of Health, NIH)宣布,未来将不再资助仅依赖动物实验的课题申请,此举措将大幅提升替代方法如类器官等技术的应用潜力。

5.2 类器官概述

类器官是由干细胞或器官祖细胞以细胞解离和空间限制的谱系定向分化为基础进行自我组装,形成包含多种器官特异性细胞类群的3D结构^[52]。随着类器官技术的发展,类器官在模型构建、致病机制研究和开发疾病治疗方法等方面发挥着越来越重要的作用^[53]。类器官主要以2种不同类型的干细胞为基础进行构建:(1)胚胎干细胞(embryonic stem cell, ESC)或诱导多能干细胞(induced pluripotent stem cell, iPSC);(2)器官特异性成体干细胞(adult

stem cell, ASC)^[54-55]。干细胞在生长发育成为类器官的过程中需要细胞外基质如富含层粘连蛋白和胶原蛋白的基质胶支持。但在培养过程中,ESC、iPSC和ASC所需的培养条件差异较大。由于多能干细胞衍生为类器官通常模拟胚胎发育过程中的组织器官发生过程,其分化过程需要经历多个不同的培养阶段,并需要较长的培养时间^[56]。多能干细胞来源的类器官模型的优点在于其细胞组成成分更为复杂,可能包含上皮细胞、间质细胞或内皮细胞,且培养过程高度模拟了组织器官发育过程,是发育及遗传疾病相关研究的优秀模型^[57]。此外,一些再生能力弱的器官(如大脑、心脏等)也需要用多能干细胞进行类器官培养^[58]。相比之下,ASC来源的类器官更好地模拟了成体组织器官修复过程,并只能从具有再生能力的器官(如肺、小肠等)中建立^[56]。目前ASC来源类器官仅包含来源器官的上皮细胞,缺乏如神经、血管等成分,故而在整体结构的复杂程度上低于多能干细胞来源类器官。但值得注意的是,由于ASC的谱系分化方向已经确定,其生成类器官的上皮结构和功能更为成熟且所需时间较短,通常在一周内即可完成^[59]。类器官因其能体外培养多种以前无法培养的特定细胞类型且保持遗传稳定而被广泛应用于组织生理学研究、癌症等疾病模型构建、生物样本库建立和精准医学研究当中^[58,60-62]。同时,类器官也为传染性疾病研究提供了绝佳的研究模型。

5.3 类器官在病毒性疾病研究中的应用

近年来类器官技术在感染性疾病研究中展现出巨大潜力^[63]。目前已有包括小肠、结肠、呼吸道、肺泡、胆管、脉络丛、大脑在内等多种类器官被用于寨卡病毒、流感病毒、冠状病毒等多种人类病毒的研究^[64-67]。通过使用不同人源类器官对病原进行研究,可以在器官水平上了解病毒的感染嗜性,分析病毒与宿主的相互作用模式,系统探索人体组织细胞对病毒感染的反应。这有效地提高了研究病毒致病机制的真实性,并避免了伦理问题。以下主要介绍类器官在流感病毒和冠状病毒研究中的应用。

流感病毒由于其抗原漂移等机制导致其新毒株不断涌现,流感疫苗的有效性往往很难达到期望水平。因此对于不断更新的流感病毒毒株,其传播能力、致病性和致病机制需要有一套快速准确的分析鉴别方法。HUI等^[68]利用成体干细胞生成的人

气道类器官 (airway organoid, AO) 比较了从病人体内分离到的禽类 H5、H7 亚型病毒以及 H1N1 毒株的复制动力和宿主应答反应差异。结果表明 H1N1 和 H7N9 具有更强的复制能力, 但诱导炎性细胞因子的能力弱于高致病性禽流感 H5N1。此外, 在 H7 亚型中 H7N9/Ah 毒株复制能力远强于 H7N2, 这与临床观察结果高度吻合。在另一项研究中, 研究人员发现新分离的 H5N6 和 H5N8 毒株在 AO 上皮细胞中的复制效率低于人流行株 H1N1 和 H5N1, 表明其具有跨种风险但导致病毒在人群中流行的可能性较低^[69]。人鼻黏膜和气管类器官的病毒感染特征也被 WHO 列为评估病毒传播能力的重要参数^[70]。此外, 由于流感病毒的抗原变异速度快, 流感疫苗研发也需要实时追踪最新的病毒信息。由于疫苗的临床前研究主要依赖小鼠或非人灵长类动物, 无法保障疫苗研发速度及有效性。最近扁桃体类器官的出现为病毒疫苗的快速研发带来了新的可能性。用手术切除的扁桃体样本在 Transwell 中进行培养, 这种方法形成的扁桃体类器官保留了生发中心的特征。在使用减毒活流感疫苗刺激后, 扁桃体类器官能产生针对流感的特异性 T 细胞应答以及抗原特异性抗体^[71]。利用流感病毒抗原对来自不同捐献者的扁桃体类器官进行刺激, 发现不同个体对抗原刺激后建立的适应性免疫应答具有明显差异, 说明扁桃体类器官在未来疫苗研发等临床研究中具有极大的应用潜力^[72]。

ZHOU 团队^[73]使用人小肠类器官, 证实了 MERS-CoV 的组织嗜性并不限于呼吸道, 需要对患者或骆驼感染后消化道排出病毒的感染性提高警惕。新冠疫情暴发后, 我们团队在世界上首次报道了 SARS-CoV-2 对人源胆管类器官的感染特性, 揭示了病毒感染导致肝脏功能损伤的可能机制^[74]。之后, 其他团队陆续报道了 SARS-CoV-2 可以感染人胰腺类器官、肝脏/胆管类器官、气管/肺泡类器官、小肠/结肠类器官、脉络丛类器官等多种组织类型^[75-76]。其中大部分感染情况在临床病例中都得到证实, 表明人源类器官在模拟冠状病毒感染组织嗜性方面有着出色的应用价值。人源呼吸道类器官在探索 SARS-CoV-2 致病机制的过程中发挥着重要的作用。利用鼻黏膜类器官模型 (nasal organoid, NO), 研究团队发现 SARS-CoV-2 建立感染首先吸附在运动纤毛上, 随后利用运动纤毛突破黏液层感染细胞。在建立感

染后, 病毒通过激活 PAK 信号通路刺激微绒毛生长并借助微绒毛重新流回黏液层以达到扩散感染的目的^[77]。WOODALL 等^[78]建立了涵盖儿童 (<12 岁)、成人 (30~50 岁) 及老年人 (>70 岁) 的 hNO 2D-ALI 资源库。病毒感染后发现, 儿童 hNO 出现一群 BP1FA1 阳性杯状细胞亚型。这群细胞高表达干扰素刺激基因并限制病毒复制。与之相反的是, 老年人 hNO 中基底样细胞比例增加用以增强上皮屏障的修复, 但同时促进了病毒感染。这一发现也在一定程度上解释了新冠对儿童和老年人表现出致病性差异的原因。此外, 远端肺类器官 (lung organoid, LO) 涵盖了气道及肺泡的多种上皮细胞, 包括 II 型肺泡上皮细胞 (alveolar type 2 cells, AT2 cell) 和纤毛细胞等, 其中多种细胞均表达 SARS-CoV-2 受体 ACE2 和宿主蛋白酶 TMPRSS2, 表明 LO 是研究 SARS-CoV-2 感染的优良模型。在对 LO 的感染实验中发现, 多种上皮细胞均是 SARS-CoV-2 感染的靶细胞^[79]。AT2 在感染后会激活细胞凋亡通路并抑制表面活性蛋白的表达从而导致肺泡功能丧失^[80]。转录组学分析发现 AT2 在感染病毒后会引发显著的干扰素信号通路变化, CXCL10、CXCL11、CXCL17 等趋化因子表达增强并激活 TNFSF10、CASP1、CASP4、CASP5、CASP7 等细胞死亡信号^[81]。这些结果与 COVID-19 患者肺部病理变化及转录组学数据高度吻合^[82]。以上结果表明人源类器官在冠状病毒致病机制研究中有着优越的模拟人器官感染后真实反应的能力。此外, 类器官也被用于筛选阻断病毒结合和入侵药物的相关研究^[83-85]。

6 类器官在冠状病毒跨种风险及跨种机制研究中的应用

我们团队曾提出蝙蝠病毒跨种传播引发大流行的三个瓶颈理论^[86]。首先自然宿主携带的病毒需要具备入侵新宿主 (如其他野生或家养动物或人类) 细胞的能力, 并且自然宿主与潜在新宿主需要存在相同的生态环境中; 其次病毒需要适应首个接触的新宿主, 突破该宿主的抗病毒免疫机制, 快速复制显著提升病毒载量并为病毒向其他个体扩散做好准备; 最后病毒需要突破宿主群体中的预存免疫 (例如人群接种过相似病毒疫苗, 可能存在交叉免疫应答反应), 并且需要具备更强的致病性引发宿主产生如咳嗽、腹泻、出血等病症来增加病毒在种群间传播

的能力。

由于病毒分离困难,目前可深度评估跨种风险的冠状病毒毒株较少。QIN团队^[87]利用hAO评估了一株穿山甲冠状病毒pCoV-GD01的跨种风险。结果显示,pCoV-GD01在感染早期复制速度显著低于SARS-CoV-2,但在感染后期可以达到相似的高峰值病毒滴度。后续分析发现pCoV-GD01和SARS-CoV-2在hAO中诱导了类似的抗病毒和细胞因子反应,但SARS-CoV-2疫苗接种者血清能有效中和pCoV-GD01,表明该毒株具有跨种感染人的能力,但引起流行的可能性较低。FUJITA等^[88]利用iPSC衍生的hAO、人肺泡类器官以及人结肠类器官对一株分离自蝙蝠肛拭子样本的SARS-CoV-2相关冠状病毒B236(BANAL-20-236)进行了研究。结果显示,B236毒株在呼吸道类器官中的复制能力均弱于SARS-CoV-2,尤其在hAO中差距更为显著。转录组分析发现B236在感染hAO后几乎未引发宿主抗病毒应答反应。而与之相反的是,B236感染人结肠类器官的效率显著高于SARS-CoV-2,并引发了比SARS-CoV-2更强烈的宿主应答反应。总体上说明B236对人的跨种风险更趋向于肠道感染,传播流行的风险较低。我们团队从穿山甲样本中分离到一株merbecovirus毒株MjHKU4r-CoV-1,其利用MERS-CoV的同源受体DPP4。利用hAO和人结肠类器官我们发现MjHKU4r-CoV-1均能有效复制,但在肠道中复制效率更高^[89]。此外,我们从蝙蝠体内分离到的另一株merbecovirus毒株BtHKU5-CoV-2-441并不使用DPP4,而是利用SARS-CoV的同源受体ACE2。有趣的是,该毒株能有效感染hNO类器官、hAO以及人结肠类器官,且复制效率相当,并未呈现出特殊的组织偏好性^[90]。

上述研究基本展现了目前基于类器官对动物来源冠状病毒跨种风险评估的研究策略。然而这些方法在定量分析病毒跨种感染风险和致病风险方面具有一定局限性。为解决上述难点,我们基于人源类器官模型,构建了一套病毒风险综合定量评价体系,用于评估野生动物携带冠状病毒的潜在跨种感染、传播和致病风险。首先,以5株人冠状病毒(SARS-CoV-2、Omicron-BA.1、MERS-CoV、HCoV-229E和HCoV-OC43)为基准标定对象,通过对hNO和hLO的感染特征(包括病毒的细胞嗜性、病毒入侵途径偏好性、病毒复制活性、病毒感染引发的

宿主应答反应和病毒感染引起的细胞死亡)数据进行收集和定量赋分,我们使用加权计算的方式设计了一套能指征冠状病毒对人感染能力和致病性强弱的综合评价体系。基于该体系,我们对来自蝙蝠及穿山甲的3株SARS相关冠状病毒进行了定量风险评估。结果显示这3株病毒对人的风险均低于人低致病性冠状病毒^[91]。我们的这项研究创立了一种新的类器官-病毒跨种风险评估研究策略。然而,我们认为野生动物携带的病毒要跨越瓶颈直接感染人类的概率极低,更大的可能是通过某些中间宿主适应性感染后再传到人类社会引发流行。因而基于该策略依然容易忽略部分病毒的跨种风险。

病毒跨种除开入侵细胞这一瓶颈,还需要突破或适应新宿主的抗病毒机制。因此仅利用人源类器官无法从病毒传播链的全貌去深入理解病毒的跨种传播机制。ZHOU团队^[92]建立了中华菊头蝠肠道类器官,利用该类器官成功从患者粪便样本中分离到SARS-CoV-2毒株并发现病毒在蝙蝠肠道类器官中能高效复制。HASHIMI等^[93]建立的牙买加果蝠肠道类器官几乎不能支持SARS-CoV-2的感染性复制,在排除受体利用因素的影响后,研究团队将该表型归结于SARS-CoV-2感染引起强烈的干扰素反应,导致病毒未能适应并突破牙买加果蝠抗病毒应答机制。ZHOU团队^[94]基于菊头蝠肠道类器官进一步解析了蝙蝠对冠状病毒耐受的细胞机制。研究发现,蝙蝠类器官在Poly(I:C)的刺激下比人源类器官具有更快、更强烈、更持久的抗病毒应答反应。在SARS-CoV-2或HKU-4感染早期抑制TLR3/RLR信号通路可以显著促进病毒在蝙蝠肠道类器官中的增殖。埃及果蝠类器官对马尔堡病毒的抵抗也有相似的作用机制^[95]。KIM等^[96]建立了包含菊头蝠在内的5种蝙蝠来源类器官,并通过一系列感染实验证实了蝙蝠物种对冠状病毒感染具有选择性,提示病毒的跨种机制需要从病毒对多个物种的适应性角度开展研究。目前已报道了多个物种的类器官感染模型,这将帮助我们进一步理解病毒对不同宿主适应性差异的内在机制^[97-99]。

7 挑战与展望

自然界已发现上万种冠状病毒,要厘清其对人类社会的潜在威胁必须建立一套通量更高、评价更全面的风险预警体系。当前面临的第一个难点在于

病毒分离非常困难。YAN团队^[100]开发了一种功能性病毒定制受体(customized viral receptors, CVRs)策略用于多种受体未知的冠状病毒分离培养。该方法目前已成功分离到多株冠状病毒,但由于该体系主要基于细胞系,可能缺乏某些冠状病毒入侵所需的宿主蛋白酶等微环境。类器官的一大优势在于能模拟组织器官的局部微环境,利用对应宿主类器官或基于CRISPR技术将CVR体系整合到某一固定宿主类器官中可能会大大提高病毒分离的效率,解决当前分离困难的痛点。

此外,在活病毒资源受限的情况下,假病毒等反向遗传学手段可以提高病毒测试筛选比例,减少因测试数量不足而导致重点病毒遗漏的问题。DA-DONAITE等^[101]基于非复制型假病毒建立了一种慢病毒文库用于包装含有大量突变序列的假病毒组库体系。利用这种体系可以将数千种冠状病毒S序列包装成一个或多个假病毒组库。这种方法可以极大地提高病毒测试通量,做到重点病毒不遗漏。

新病原被发现后公众首先关注的是它对人类的直接感染威胁,而病毒从自然宿主直接跨种到人类并引发严重疾病的概率很低。因此,实验室中对

冠状病毒跨种风险的评估应当考虑到自然宿主和潜在中间宿主对病毒外溢的贡献。一般认为大部分冠状病毒仅停留在其自然宿主种群中难以感染其他物种,这类病毒的跨种风险较低;小部分病毒可能具备跳跃到其他野生动物或家养动物群体的潜力,经过适应性感染后有更高的可能传染到人类社会。这部分病毒的跨种风险评估受到研究模型的限制,通常依赖于不同物种的已知受体或细胞系^[102]。基于类器官技术,我们可以将冠状病毒的多种自然宿主以及潜在中间宿主的呼吸道和肠道类器官建立一个标准可开放使用的生物资源库。利用已知传播途径的病毒对多物种类器官平台可靠性进行测试后,即可使用假病毒组库及活病毒开展高通量的风险评估(图2)。一方面可以全面扫描潜在高风险病毒,为下游疫苗药物的前瞻性开发提供参考依据;另一方面通过对病毒与多物种相互作用关系的研究,深入理解冠状病毒跨种传播的底层逻辑和机制。此外,机器学习和人工智能技术的进步也为病毒跨种感染预警平台的搭建提供了极大的想象空间^[103-104]。通过大量病毒-多物种类器官互作数据的训练,可以加快病毒跨种预警智能体的出现。

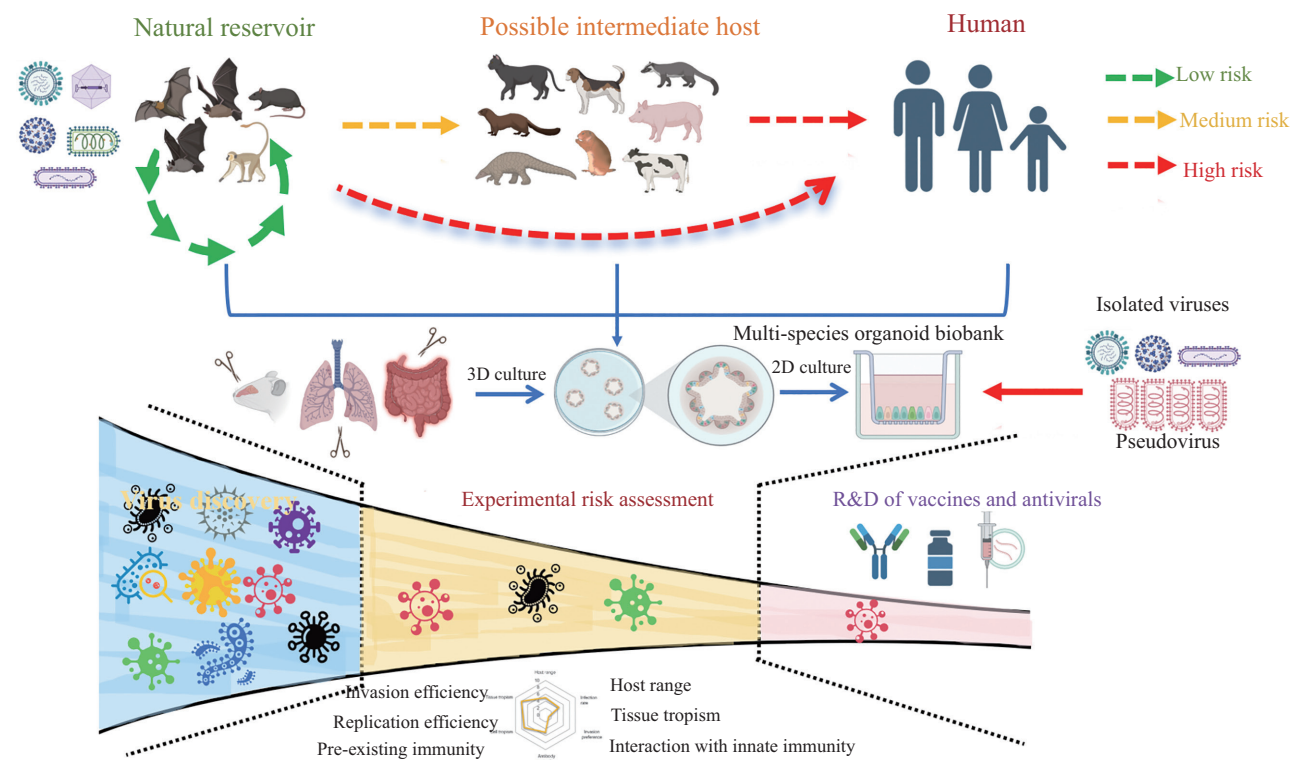


图2 基于多物种类器官模型的病毒跨种感染风险评估策略

Fig.2 A strategy for assessing the risk of cross-species viral infections using multi-species organoid models

此外, 现有类器官模型通常只能表征器官的上皮部分, 缺乏免疫细胞和血管的参与。病毒的致病性体现往往需要免疫细胞和血液循环的共同参与, 致病性的高低也是病毒潜在威胁的重要组成部分。已有研究将外周血单核细胞PBMC同呼吸道类器官进行共培养用以研究病毒感染后上皮-免疫细胞的互作效应^[105]。也有报道将肺毛细血管内皮细胞整合到LO之中形成新型内皮化的LO体系^[61,106]。未来重要的研究方向之一就是复杂化类器官的培养方法简化, 降低培养门槛并推广到其他类型类器官体系中, 为病原学研究再添利器。

参考文献 (References)

- [1] TAYLOR L H, LATHAM S M, WOOLHOUSE M E. Risk factors for human disease emergence [J]. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, 2001, 356(1411): 983-9.
- [2] JONES K E, PATEL N G, LEVY M A, et al. Global trends in emerging infectious diseases [J]. *Nature*, 2008, 451(7181): 990-3.
- [3] PIOT P, SPENCER J. From 1976 to 2018: reflections on early investigations into the Ebola virus [J]. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 2018, 112(12): 527-8.
- [4] LEROY E M, KUMULUNGUI B, POURRUT X, et al. Fruit bats as reservoirs of Ebola virus [J]. *Nature*, 2005, 438(7068): 575-6.
- [5] MURRAY K A, PRESTON N, ALLEN T, et al. Global biogeography of human infectious diseases [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2015, 112(41): 12746-51.
- [6] OLIVAL K J, HOSSEINI P R, ZAMBRANA-TORRELIO C, et al. Host and viral traits predict zoonotic spillover from mammals [J]. *Nature*, 2017, 546(7660): 646-50.
- [7] CHEN L, LIU B, YANG J, et al. DBatVir: the database of bat-associated viruses [J]. *Database*, 2014, 2014: bau021.
- [8] WHO. Pathogens prioritization: a scientific framework for epidemic and pandemic research preparedness [M/OL]. <https://www.who.int/publications/m/item/pathogens-prioritization-a-scientific-framework-for-epidemic-and-pandemic-research-preparedness>, 2024.
- [9] BÁRCENA M, OOSTERGETEL G T, BARTELINK W, et al. Cryo-electron tomography of mouse hepatitis virus: Insights into the structure of the coronavirus [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106(2): 582-7.
- [10] FEHR A R, PERLMAN S. Coronaviruses: an overview of their replication and pathogenesis [J]. *Methods Mol Biol*, 2015, 1282: 1-23.
- [11] WOO P C Y, DE GROOT R J, HAAGMANS B, et al. ICTV virus taxonomy profile: coronaviridae 2023 [J]. *J Gen Virol*, 2023, 104(4): 001843.
- [12] MILLET J K, JAIMES J A, WHITTAKER G R. Molecular diversity of coronavirus host cell entry receptors [J]. *FEMS Microbiol Rev*, 2021, 45(3): fuaa057.
- [13] PARK K, SHIN M, NATASHA A, et al. Novel human coronavirus in an infant patient with pneumonia, Republic of Korea [J]. *Emerg Microbes Infect*, 2025, 14(1): 2466705.
- [14] KANE Y, WONG G, GAO G F. Animal models, zoonotic reservoirs, and cross-species transmission of emerging human-infecting coronaviruses [J]. *Annu Rev Anim Biosci*, 2023, 11: 1-31.
- [15] GRAHAM R L, BARIC R S. Recombination, reservoirs, and the modular spike: mechanisms of coronavirus cross-species transmission [J]. *J Virol*, 2010, 84(7): 3134-46.
- [16] PECK K M, BURCH C L, HEISE M T, et al. Coronavirus host range expansion and middle east respiratory syndrome coronavirus emergence: biochemical mechanisms and evolutionary perspectives [J]. *Annu Rev Virol*, 2015, 2(1): 95-117.
- [17] ULASLI M, VERHEIJJE M H, DE HAAN C A, et al. Qualitative and quantitative ultrastructural analysis of the membrane rearrangements induced by coronavirus [J]. *Cell Microbiol*, 2010, 12(6): 844-61.
- [18] HARTENIAN E, NANDAKUMAR D, LARI A, et al. The molecular virology of coronaviruses [J]. *J Biol Chem*, 2020, 295(37): 12910-34.
- [19] WELLS H L, BONAVIDA C M, NAVARRETE-MACIAS I, et al. The coronavirus recombination pathway [J]. *Cell Host Microbe*, 2023, 31(6): 874-89.
- [20] GE X Y, LI J L, YANG X L, et al. Isolation and characterization of a bat SARS-like coronavirus that uses the ACE2 receptor [J]. *Nature*, 2013, 503(7477): 535-8.
- [21] YANG X L, HU B, WANG B, et al. Isolation and characterization of a novel bat coronavirus closely related to the direct progenitor of severe acute respiratory syndrome coronavirus [J]. *J Virol*, 2015, 90(6): 3253-6.
- [22] HU B, ZENG L P, YANG X L, et al. Discovery of a rich gene pool of bat SARS-related coronaviruses provides new insights into the origin of SARS coronavirus [J]. *PLoS Pathog*, 2017, 13(11): e1006698.
- [23] SABIR J S, LAM T T, AHMED M M, et al. Co-circulation of three camel coronavirus species and recombination of MERS-CoVs in Saudi Arabia [J]. *Science*, 2016, 351(6268): 81-4.
- [24] ALAGAILI A N, BRIESE T, MISHRA N, et al. Middle East respiratory syndrome coronavirus infection in dromedary camels in Saudi Arabia [J]. *mBio*, 2014, 5(2): e00884-14.
- [25] LAU S K P, ZHANG L, LUK H K H, et al. Receptor usage of a novel bat lineage c betacoronavirus reveals evolution of middle east respiratory syndrome-related coronavirus spike proteins for human dipeptidyl peptidase 4 binding [J]. *J Infect Dis*, 2018, 218(2): 197-207.
- [26] YANG L, WU Z, REN X, et al. MERS-related betacoronavirus in *Vespertilio superans* bats, China [J]. *Emerg Infect Dis*, 2014, 20(7): 1260-2.
- [27] YANG Y, DU L, LIU C, et al. Receptor usage and cell entry of bat coronavirus HKU4 provide insight into bat-to-human transmission of MERS coronavirus [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2014, 111(34): 12516-21.
- [28] CHEN N, ZHOU M, DONG X, et al. Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study [J]. *Lancet*, 2020, 395(10223): 507-13.
- [29] ZHOU P, YANG X L, WANG X G, et al. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin [J]. *Nature*, 2020, 579(7798): 270-3.
- [30] HOLMES E C, GOLDSTEIN S A, RASMUSSEN A L, et al. The origins of SARS-CoV-2: a critical review [J]. *Cell*, 2021, 184(19): 4705-4712.

- 4848-56.
- [31] CRITS-CHRISTOPH A, LEVY J I, PEKAR J E, et al. Genetic tracing of market wildlife and viruses at the epicenter of the COVID-19 pandemic [J]. *Cell*, 2024, 187(19): 5468-82.e11.
 - [32] TEMMAM S, VONGPHAYLOTH K, BAQUERO E, et al. Bat coronaviruses related to SARS-CoV-2 and infectious for human cells [J]. *Nature*, 2022, 604(7905): 330-6.
 - [33] DELAUNE D, HUL V, KARLSSON E A, et al. A novel SARS-CoV-2 related coronavirus in bats from Cambodia [J]. *Nat Commun*, 2021, 12(1): 6563.
 - [34] XIAO K, ZHAI J, FENG Y, et al. Isolation of SARS-CoV-2-related coronavirus from Malayan pangolins [J]. *Nature*, 2020, 583(7815): 286-9.
 - [35] WICKENHAGEN A, VAN TOL S, MUNSTER V. Molecular determinants of cross-species transmission in emerging viral infections [J]. *Microbiol Mol Biol Rev*, 2024, 88(3): e0000123.
 - [36] CASSETTI M C, PIERSON T C, PATTERSON L J, et al. Prototype pathogen approach for vaccine and monoclonal antibody development: a critical component of the NIAID plan for pandemic preparedness [J]. *J Infect Dis* 2023, 227(12): 1433-41.
 - [37] SHAN C, YAO Y F, YANG X L, et al. Infection with novel coronavirus (SARS-CoV-2) causes pneumonia in *Rhesus macaques* [J]. *Cell Res*, 2020, 30(8): 670-7.
 - [38] JIANG R D, LIU M Q, CHEN Y, et al. Pathogenesis of SARS-CoV-2 in transgenic mice expressing human angiotensin-converting enzyme 2 [J]. *Cell*, 2020, 182(1): 50-8.e8.
 - [39] HU B, GUO H, ZHOU P, et al. Characteristics of SARS-CoV-2 and COVID-19 [J]. *Nat Rev Microbiol*, 2020: 1-14.
 - [40] YAO Y F, WANG Z J, JIANG R D, et al. Protective efficacy of inactivated vaccine against SARS-CoV-2 infection in mice and non-human primates [J]. *Viol Sin*, 2021, 36(5): 879-89.
 - [41] WANG N, JI W, JIAO H, et al. A MERS-CoV-like mink coronavirus uses ACE2 as an entry receptor [J]. *Nature*, 2025, 642(8068): 739-46.
 - [42] SU C, HE J, WANG L, et al. Structural characteristics of BtKY72 RBD bound to bat ACE2 reveal multiple key residues affecting ACE2 usage of sarbecoviruses [J]. *mBio*, 2024, 15(9): e0140424.
 - [43] LIU K, PAN X, LI L, et al. Binding and molecular basis of the bat coronavirus RaTG13 virus to ACE2 in humans and other species [J]. *Cell*, 2021, 184(13): 3438-51.e10.
 - [44] PEÑA-HERNÁNDEZ M A, ALFAJARO M M, FILLER R B, et al. SARS-CoV-2-related bat viruses evade human intrinsic immunity but lack efficient transmission capacity [J]. *Nat Microbiol*, 2024, 9(8): 2038-50.
 - [45] SI J Y, CHEN Y M, SUN Y H, et al. Sarbecovirus RBD indels and specific residues dictating multi-species ACE2 adaptiveness [J]. *Nat Commun*, 2024, 15(1): 8869.
 - [46] STARR T N, ZEPEDA S K, WALLS A C, et al. ACE2 binding is an ancestral and evolvable trait of sarbecoviruses [J]. *Nature*, 2022, 603(7903): 913-8.
 - [47] 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.
 - [48] 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.
 - [49] 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.
 - [50] JIANG R D, LUO Y Z, LIN H F, et al. Impaired inflammatory resolution with severe SARS-CoV-2 infection in leptin knock out obese hamster [J]. *iScience*, 2025, 28(2): 111837.
 - [51] MUKHERJEE P, ROY S, GHOSH D, et al. Role of animal models in biomedical research: a review [J]. *Lab Anim Res*, 2022, 38(1): 18.
 - [52] LANCASTER M A, KNOBLICH J A. Organogenesis in a dish: Modeling development and disease using organoid technologies [J]. *Science*, 2014, 345(6194): 1247125.
 - [53] VAZQUEZ-ARMENDARIZ A I, TATA P R. Recent advances in lung organoid development and applications in disease modeling [J]. *J Clin Invest*, 2023, 133(22): e170500.
 - [54] EIRAKU M, SASAI Y. Self-formation of layered neural structures in three-dimensional culture of ES cells [J]. *Curr Opin Neurobiol*, 2012, 22(5): 768-77.
 - [55] KATSURA H, SONTAKE V, TATA A, et al. Human lung stem cell-based alveolospheres provide insights into SARS-CoV-2-mediated interferon responses and pneumocyte dysfunction [J]. *Cell Stem Cell*, 2020, 27(6): 890-904.e8.
 - [56] CLEVERS H. Modeling development and disease with organoids [J]. *Cell*, 2016, 165(7): 1586-97.
 - [57] TAKASATO M, ER P X, CHIU H S, et al. Kidney organoids from human iPS cells contain multiple lineages and model human nephrogenesis [J]. *Nature*, 2015, 526(7574): 564-8.
 - [58] LANCASTER M A, RENNER M, MARTIN C A, et al. Cerebral organoids model human brain development and microcephaly [J]. *Nature*, 2013, 501(7467): 373-9.
 - [59] 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.
 - [60] SUEZAWA T, KANAGAKI S, MORIGUCHI K, et al. Disease modeling of pulmonary fibrosis using human pluripotent stem cell-derived alveolar organoids [J]. *Stem Cell Reports*, 2021, 16(12): 2973-87.
 - [61] AMENT A L, HEINER M, HESSLER M C, et al. Endothelialized bronchioalveolar lung organoids model endothelial cell responses to injury [J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2025, 72(2): 124-32.
 - [62] SAMPAZIOTIS F, JUSTIN A W, TYSOE O C, et al. Reconstruction of the mouse extrahepatic biliary tree using primary human extrahepatic cholangiocyte organoids [J]. *Nat Med*, 2017, 23(8): 954-63.
 - [63] REN B, CHIARAVALLOTI T R, BELONY N L, et al. Design and realization of lung organoid cultures for COVID-19 applications [J]. *Biodes Manuf*, 2023, 6(6): 646-60.
 - [64] CHU J T S, LAMERS M M. Organoids in virology [J]. *Npj Viruses*, 2024, 2(1): 5.
 - [65] 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.
 - [66] QIAN X, NGUYEN H N, SONG M M, et al. Brain-region-specific organoids using mini-bioreactors for modeling ZIKV exposure [J]. *Cell*, 2016, 165(5): 1238-54.
 - [67] ETTAYEBI K, CRAWFORD S E, MURAKAMI K, et al. Replica-

- tion of human noroviruses in stem cell-derived human enteroids [J]. *Science*, 2016, 353(6306): 1387-93.
- [68] 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.
- [69] 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.
- [70] WHO. Tool for influenza pandemic risk assessment (TIPRA) 2nd edition [M/OL]. [https://www.who.int/publications/i/item/tool-for-influenza-pandemic-risk-assessment-\(tipra\)-2nd-edition](https://www.who.int/publications/i/item/tool-for-influenza-pandemic-risk-assessment-(tipra)-2nd-edition), 2020.
- [71] WAGAR L E, SALAHUDEEN A, CONSTANTZ C M, et al. Modeling human adaptive immune responses with tonsil organoids [J]. *Nat Med*, 2021, 27(1): 125-35.
- [72] KASTENSCHMIDT J M, SURESHCHANDRA S, JAIN A, et al. Influenza vaccine format mediates distinct cellular and antibody responses in human immune organoids [J]. *Immunity*, 2023, 56(8): 1910-26, e7.
- [73] ZHOU J, LI C, ZHAO G Y, et al. Human intestinal tract serves as an alternative infection route for middle east respiratory syndrome coronavirus [J]. *Sci Adv*, 2017, 3(11): eaao4966.
- [74] ZHAO B, NI C, GAO R, et al. Recapitulation of SARS-CoV-2 infection and cholangiocyte damage with human liver ductal organoids [J]. *Protein Cell*, 2020, 11(10): 771-5.
- [75] ZHANG B Z, CHU H, HAN S, et al. SARS-CoV-2 infects human neural progenitor cells and brain organoids [J]. *Cell Res*, 2020, 30(10): 928-31.
- [76] JANSEN J, REIMER K C, NAGAI J S, et al. SARS-CoV-2 infects the human kidney and drives fibrosis in kidney organoids [J]. *Cell Stem Cell*, 2022, 29(2): 217-31, e8.
- [77] WU C T, LIDSKY P V, XIAO Y, et al. SARS-CoV-2 replication in airway epithelia requires motile cilia and microvillar reprogramming [J]. *Cell*, 2023, 186(1): 112-30, e20.
- [78] WOODALL M N J, CUJBA A M, WORLOCK K B, et al. Age-specific nasal epithelial responses to SARS-CoV-2 infection [J]. *Nat Microbiol*, 2024, 9(5): 1293-311.
- [79] SALAHUDEEN A A, CHOI S S, RUSTAGI A, et al. Progenitor identification and SARS-CoV-2 infection in human distal lung organoids [J]. *Nature*, 2020, 588(7839): 670-5.
- [80] YOUK J, KIM T, EVANS K V, et al. Three-dimensional human alveolar stem cell culture models reveal infection response to SARS-CoV-2 [J]. *Cell Stem Cell*, 2020, 27(6): 905-19, e10.
- [81] 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.
- [82] KATSURA H, SONTAKE V, TATA A, et al. Human lung stem cell-based alveolospheres provide insights into SARS-CoV-2-mediated interferon responses and pneumocyte dysfunction [J]. *Cell Stem Cell*, 2020, 27(6): 890-904, e8.
- [83] HAN Y L, DUAN X H, YANG L L, et al. Identification of SARS-CoV-2 inhibitors using lung and colonic organoids [J]. *Nature*, 2021, 589(7841): 270-5.
- [84] 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.
- [85] MILLS R J, HUMPHREY S J, FORTUNA P R J, et al. BET inhibition blocks inflammation-induced cardiac dysfunction and SARS-CoV-2 infection [J]. *Cell*, 2021, 184(8): 2167-82, e22.
- [86] YANG Y, SHEN X R, ZHANG Y L, et al. Strategy to assess zoonotic potential reveals low risk posed by SARS-related coronaviruses from bat and pangolin [J]. *mBio*, 2023, 14(2): e0328522.
- [87] HUANG X Y, CHEN Q, SUN M X, et al. A pangolin-origin SARS-CoV-2-related coronavirus: infectivity, pathogenicity, and cross-protection by preexisting immunity [J]. *Cell Discov*, 2023, 9(1): 59.
- [88] FUJITA S, PLIANCHAIK A, DEGUCHI S, et al. Virological characteristics of a SARS-CoV-2-related bat coronavirus, BANAL-20-236 [J]. *EBioMedicine*, 2024, 104: 105181.
- [89] CHEN J, YANG X, SI H, et al. A bat MERS-like coronavirus circulates in pangolins and utilizes human DPP4 and host proteases for cell entry [J]. *Cell*, 2023, 186(4): 850-63, e16.
- [90] CHEN J, ZHANG W, LI Y, et al. Bat-infecting merbecovirus HKU5-CoV lineage 2 can use human ACE2 as a cell entry receptor [J]. *Cell*, 2025, 188(6): 1729-42, e16.
- [91] GONG Q, JIANG R, JI L, et al. Establishment of a human organoid-based evaluation system for assessing interspecies infection risk of animal-borne coronaviruses [J]. *Emerg Microbes Infect*, 2024, 13(1): 2327368.
- [92] ZHOU J, LI C, LIU X, et al. Infection of bat and human intestinal organoids by SARS-CoV-2 [J]. *Nat Med*, 2020, 26(7): 1077-83.
- [93] HASHIMI M, SEBRELL T A, HEDGES J F, et al. Antiviral responses in a Jamaican fruit bat intestinal organoid model of SARS-CoV-2 infection [J]. *Nat Commun*, 2023, 14(1): 6882.
- [94] LIU X, LI C, WAN Z, et al. Analogous comparison unravels heightened antiviral defense and boosted viral infection upon immunosuppression in bat organoids [J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2022, 7(1): 392.
- [95] KELLNER M J, MONTEIL V M, ZELGER P, et al. Bat organoids reveal antiviral responses at epithelial surfaces [J]. *Nat Immunol*, 2025, 26(6): 934-46.
- [96] KIM H, HEO S Y, KIM Y I, et al. Diverse bat organoids provide pathophysiological models for zoonotic viruses [J]. *Science*, 2025, 388(6748): 756-62.
- [97] XU G, QIAO Z, SCHRAAUWEN R, et al. Evidence for cross-species transmission of human coronavirus OC43 through bioinformatics and modeling infections in porcine intestinal organoids [J]. *Vet Microbiol*, 2024, 293: 110101.
- [98] TEKES G, EHMANN R, BOULANT S, et al. Development of feline ileum- and colon-derived organoids and their potential use to support feline coronavirus infection [J]. *Cells*, 2020, 9(9): 2085.
- [99] ZHANG S, ZHANG S, HOU Y, et al. Porcine deltacoronavirus infection disrupts the intestinal mucosal barrier and inhibits intestinal stem cell differentiation to goblet cells via the notch signaling pathway [J]. *J Virol*, 2023, 97(6): e0068923.
- [100] LIU P, HUANG M L, GUO H, et al. Design of customized coronavirus receptors [J]. *Nature*, 2024, 635(8040): 978-86.
- [101] DADONAITE B, CRAWFORD K H D, RADFORD C E, et al. A pseudovirus system enables deep mutational scanning of the full SARS-CoV-2 spike [J]. *Cell*, 2023, 186(6): 1263-78, e20.
- [102] LAU S K P, FAN R Y Y, LUK H K H, et al. Replication of

- MERS and SARS coronaviruses in bat cells offers insights to their ancestral origins [J]. *Emerg Microbes Infect*, 2018, 7(1): 209.
- [103] WARDEH M, BLAGROVE M S C, SHARKEY K J, et al. Divide-and-conquer: machine-learning integrates mammalian and viral traits with network features to predict virus-mammal associations [J]. *Nat Commun*, 2021, 12(1): 3954.
- [104] WONG F, DE LA FUENTE-NUNEZ C, COLLINS J J. Leveraging artificial intelligence in the fight against infectious diseases [J]. *Science*, 2023, 381(6654): 164-70.
- [105] 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.
- [106] MIAO Y, PEK N M, TAN C, et al. Co-development of mesoderm and endoderm enables organotypic vascularization in lung and gut organoids [J]. *Cell*, 188(16): 4295-313, e27.