

DOI:10.13350/j.cjpb.241027

• 综述 •

结核肉芽肿研究模型综述:类器官技术的潜力与挑战

钟如杰,杜建*

(北京市结核病胸部肿瘤研究所/首都医科大学附属北京胸科医院细菌免疫室,北京 101149)

【摘要】 结核病是一种慢性传染病,其治疗周期较长,且容易产生耐药性。这与结核杆菌诱导机体生成结核肉芽肿之间存在密切关系。为了系统地研究结核肉芽肿,出现了许多构建生物模型的方法。在本文综述中分析了结核肉芽肿的形成机制,比较了现有的生物模型构建方法,并探讨了类器官技术在构建新型结核肉芽肿体外模型的潜力与挑战,旨在为研发新型抗结核药物及优化治疗方案提供一个全新切入点。

【关键词】 结核分枝杆菌;生物模型;免疫应答;综述

【文献标识码】 A **【文章编号】** 1673-5234(2024)10-1248-04

[*Journal of Pathogen Biology*. 2024 Oct.;19(10):1248-1250, inside back cover.]

A review of research models for tuberculous granuloma: Potential and challenges of organoid techniques

ZHONG Rujie, DU Jian (*Department of bacteriology & immunology, Beijing Tuberculosis and Thoracic Tumor Research Institute/Beijing Chest Hospital, Capital Medical University, Beijing 101149, China*)

【Abstract】 Tuberculosis is a chronic infectious disease, which has a lengthy treatment cycle and a tendency to develop drug resistance. This issue is closely related to the formation of tuberculous granuloma induced by *Mycobacterium tuberculosis*. To systematically study tuberculous granulomas, various methods for constructing biological models have been developed. In this review, we analyzed the mechanism of tuberculous granuloma formation, compared and contrasted existing methods for constructing biological models, and assessed the potential and challenges of using organoid technology to create innovative in vitro models of tuberculous granulomas. The goal is to provide a fresh perspective for the development of innovative anti-tuberculosis drugs and the optimization of treatment strategies.

【Keywords】 *Mycobacterium tuberculosis*; biological models; immune response; review

* 结核病(TB)是一种由结核分枝杆菌(MTB)引起的慢性传染病。我国是TB的高负担国家,患者数量接近80万。治疗TB是一场持久战,即便对于疗程最短的敏感型结核病(DS-TB),也要至少连续规律服药4月才能起效^[1],而耐药结核病(DR-TB)的疗程更是长达18~24个月。这漫长的疗程不单是MTB复杂且坚固的细胞壁所导致的及MTB的免疫逃避作用^[2],更关键在于MTB所诱发机体生成的结核肉芽肿,为其提供了一个相对完美的庇护所。尽管目前针对MTB的生物学特性的解析及新药的研发成果颇丰,但结核肉芽肿的复杂性及高度的异质性,仍然延长着TB的治疗周期。目前,许多基于人源化细胞的研究,往往仅采用了广义上的肉芽肿定义,未能准确区分结核肉芽肿与其他类型肉芽肿之间的差异;同时,基于大型动物模型的研究则因高昂的成本和缺乏适当的试剂及检测设备而难以大面积开展。本综述中简要阐述结核肉芽肿的形成机制,评估并比较当前的研究模型,探讨现有研究成果,并展望未来研究的方向与潜力。

1 结核肉芽肿结构成熟过程及其性质

1.1 MTB的免疫逃逸 肺泡巨噬细胞(Alveolar macrophages, AMs)是MTB感染的主要目标^[3],其对MTB的吞噬及杀伤受到多种因素制约,包括自身的杀菌能力、局部炎症环境以及MTB菌株的致病力等^[4]。许多通路和受体参与了这一过程,如Toll样受体(Toll-like receptor, TLR)和C型凝集素受体(C-type lectin receptor, CLR)被激活后产生的Ⅱ型干扰

素IFN- γ 被证实对TB的控制至关重要,由胞内DNA激活的cGAS-STING通路所产生的I型干扰素则对间质巨噬细胞(Interstitial macrophages, IMs)产生影响,使其允许MTB在其中的复制,进而推动了中性粒细胞募集和活性TB的发展^[5-6]。

除此之外,MTB还通过分泌毒硫醇(Mycothiol, MSH)、过氧化氢酶(Catalase, CAT)、 γ -谷氨酰半胱氨酸(Gamma-glutamyl cysteine, GGC)等应对活性氧和氮中间体的氧化应激作用;通过早期分泌抗原-6(ESAT-6)/CFP-10和ATP1/2,阻止液泡ATP和GTP酶的积累影响吞噬细胞的成熟^[7]或者通过干扰TNF- α 、JAK2/STAT1等途径抑制巨噬细胞自噬,提高病原体存活率^[8-9]。

1.2 肉芽肿的形成与结构的成熟 随着感染深入,MTB扩散至从外周招募的细胞群,包括中性粒细胞和树突状细胞(DC)等^[10]。这些细胞与巨噬细胞互相作用,共同形成了一个以巨噬细胞为核心的免疫网络^[11],并进一步发成为由巨噬细胞、单核细胞和中性粒细胞组成的无定型细胞聚集体,被称之为早期肉芽肿(Early granulomas)^[2]。针对多种动物模型的研究揭

* **【通讯作者】** 杜建, E-mail: jdu-sdu@163.com

【作者简介】 钟如杰(1999-),男,广东廉江人,在读硕士研究生,主要研究方向:结核病免疫。
E-mail: rujiezhongstudent@163.com

示,在感染后的 12~21 d,T、B 细胞才被募集到肺部,与早期肉芽肿产生互相作用。在此过程中,肉芽肿内 MTB 生长受到抑制,并伴随着纤维鞘增厚、血管数量的减少以及泡沫状巨噬细胞增加等现象,最终导致了干酪样碎片在中心逐渐积聚,其结构也趋于成熟^[12]。最终,成熟的肉芽肿以其典型结构呈现:中心区域聚集干酪样物质,周围分布着含有 MTB 和记忆细胞的内层,以及富含 CD8⁺ T 细胞的外层。

可以说,这一过程不仅是 TB 病理特征的体现,更是细菌与宿主之间复杂互作的呈现。随着感染进一步发展,肉芽肿的成熟也标志着宿主与细菌之间的对抗进入了新阶段。

表 1 各种结核肉芽肿造模方法主要优劣势比较
Table 1 Comparison of major advantages and disadvantages of various tuberculosis granuloma modeling methods

造模方法	主要优势	主要劣势	相关文献
菌株与 PBMC 共培养	1. 人源化程度最高 2. 成本低,操作难度低	1. 细胞难以分裂或来源单一	[20-23]
PPD 包被微珠诱导	1. 可在动物体内快速诱导 2. 镜下结构层次更清晰	1. 无细胞细菌互作,免疫学特性不完全	[24-26]
C3HeB/FeJ 小鼠感染	1. 目前最易形成坏死性结核肉芽肿的模型 2. 易产生耐药性	1. 缺乏 MTB 相关细胞类型,如多核巨细胞 2. 人源化程度一般	[27-30]
斑马鱼感染	1. 可视化程度最高,适合使用荧光标记 2. 有相对完整的微环境条件 3. 适合进行遗传学研究	1. 成本高,操作难度较高	[31-33]
兔、猴等感染	1. 人源化程度,拥有完整的微环境条件 2. 病理特征及结构与人类差异极小	1. 成本极高,操作难度高 2. 易排出病原体及在体内变异 3. 遗传变异性大	[34-36]

1.3 成熟肉芽肿的性质及影响 得益于成熟肉芽肿坏死中心外层的结核小体及纤维环等形成的缺血缺氧环境,不仅有效隔离了感染部位,阻止 MTB 在肺内进一步扩散,也为细菌提供一个相对安全和稳定的微环境。这种环境削弱了联合药物的疗效,同时增加了 MTB 耐药突变的可能,如 katG、inhA、rpoB 等点位,这对体内 DR-TB 表型的出现具有关键作用^[13]。

尽管肉芽肿作为一种具有复杂且组织良好的细胞结构,但其大多数由单一细菌引起^[14]。这意味着,在感染进程中,多种因素将影响肉芽肿的形态与功能,即肉芽肿具有高度异质性和动态性^[15-17]。这些研究进一步表明,促炎和抗炎反应的局部平衡可能是决定单个肉芽肿的命运的关键,同时也是影响宿主反应的重要因素^[18]。

这些研究为更好缩短 TB 治疗时间^[19]、降低复治 TB 耐药性出现概率等问题提供了另一个切入点。为此,需要对结核肉芽肿特性做深入了解,这将助力研发新型抗结核药物及优化治疗方案。

2 现有肉芽肿模型构建方法比较

2.1 菌株与 PBMC 或其它人源化细胞共培养 该方法在高度人源化的同时,以低成本、操作简便以及便于持续观察与评估等优势,成为目前领域内广泛应用的研究方法。然而,该方法也存在一些局限性。例如细胞分裂困难或来源较为单一,限制了模型的可能性。此外,虽然该方法展现了一定的免疫学特性,但无法模拟 TB 实际病理环境的完整微环境,更无法显现结核肉芽肿中特有的坏死核心。尽管降低了研究门槛,但要利

用此模型深入揭示结核肉芽肿的复杂生物学特性还面临诸多难题,这更多是因为免疫细胞的特性所致,要对此进行技术创新和方法改进将是一项艰巨的任务^[20-23]。

2.2 PPD 包被微珠诱导 基于 PPD 包被微珠的诱导方法是在上述模型的基础上的一种创新,通过使用纯蛋白衍生物作为刺激源替代菌株,不仅保持了细胞良好的活化聚集能力,还延长了细胞的生命周期。同时,微珠的应用进一步提升了肉芽肿结构的层次清晰度,且使其能够在动物体内快速诱导,后续还可使用新型材料对微珠进行改造,以便深入研究。该方法也存在着不容忽视的劣势。首先,由于缺乏细胞与细菌之间的直接互作,这种模型的免疫学特性并不完整,使其可能更适用于结节病肉芽肿模型的构建。同时,该模型依然没有解决坏死核心的问题^[24-26]。

2.3 C3HeB/FeJ 小鼠感染 在动物模型研究领域,C3HeB/FeJ 小鼠模型以其成本低廉、对 MTB 高度易感以及容易产生耐药性等特点,已成为研究早期感染及进行药物测试的首选模型。特别是,该品系小鼠是目前最容易形成坏死核心的动物模型,这一特性使其在 TB 研究中扮演了无可替代的角色。C3HeB/FeJ 小鼠模型也存在缺陷。主要局限性包括在模拟 MTB 感染过程中,缺少如多核巨细胞等关键细胞类型,以及模型的生存周期较短,这些因素都限制了其在揭示慢性感染特征方面的能力^[27-30]。

2.4 斑马鱼感染 斑马鱼模型作为一种动物模型,以其出色的可视化能力,特别是配合荧光标记技术使用时,能够提供肉芽肿发生发展过程的清晰视窗而受到科研人员重视。自 2002 年以来,它已经成为探索新疗法和药物筛选的有力工具。同时,斑马鱼模型在遗传学研究方面也显示了其独特的价值。上述优势极大地拓展了其在结核肉芽肿研究中的应用范围。但斑马鱼模型的使用也面临着一些挑战。例如其相对较高的成本和较高的操作难度,这其中包括 ABSL-2、3 的动物房,其它特殊实验设备和饲养条件等,这些因素限制了其在一些研究环境中的应用。此外,虽然斑马鱼在模拟海洋分枝杆菌(*M. marinum*)感染方面表现优异,但其人源化程度相较其它模型较低,加之缺乏特定的试剂,可能会影响其模拟人体内病理过程及后续的实验研究^[31-33]。

2.5 兔、猴感染 在 TB 模型构建中,兔、猴感染模型因其接近人类的生理和病理特性而具有显著优势。这些模型提供了完整的微环境条件,在疾病发生发展过程、病理特征和结构与人类极为相似。因此,它们特别适用于新疗法和新药物的最终动物筛选阶段,为临床应用提供重要的预测信息。这些模型也存在显著的局限性。首先,高昂的成本和较高的操作难度,包括对 ABSL-2、3 标准动物房及专门饲养和实验设备的需求,限制了它们在广泛研究中的应用。此外,由于习性问题,这些动物易于排出病原体,加上动物本身较大的遗传变异性,这些因素不仅影响研究结果的重复性,还大幅提高实验人员意外暴露的风险^[34-36]。

3 类器官技术在肉芽肿模型中的应用:探索与挑战

基于上述讨论,构建结核肉芽肿模型的核心目的是形成一个能够精确捕获细菌的复杂细胞结构,并以此深入探索其生物学特性。尽管已经开发出多种体外构建肉芽肿的技术,但这些方法通常存在结构不完整、缺乏特异性、非人源化培养或成本

高昂等问题。同时,受医学伦理限制,无法直接动态分析患者体内结核肉芽肿的演变。

类器官技术,通过在特定培养基中培养干细胞或祖细胞,形成三维(3D)细胞结构,从而实现了对人体器官部分功能的体外模拟^[37],从而开展针对该功能的相关研究,如癌细胞耐药,心肌缺血再灌注,病原体-宿主互相作用等。2014年,适用于结核免疫学研究的3D肺组织模型被成功构建^[36],这一开创性成果清晰地展示了粘液分泌以及早期肉芽肿形成的过程,为深入了解结核病的发病机理提供了有力工具。经过十年的发展,以类器官为代表的3D细胞培养技术在生物医学各个领域大放异彩。但这样的进步是否能构建出更完美的结核肉芽肿模型,以下的几个问题是必须要回答的。

3.1 能否长时间培养,或促进干酪样坏死核心的形成 结核病作为一种慢性传染性疾病,其特征性结构在人体中也需要一定时间才能生成,前文提到的培养基模型培养时间在7~12 d之间,而以斑马鱼模型进行的研究指出,需要约20周的时间才能形成与周围组织相隔离的纤维性和/或细胞性袖套的成熟肉芽肿,其内部才可见干酪样坏死核心^[38]。这对于大多数细胞培养来说,是无法接受的时间。同时,在现有技术下,进行细胞传代将不可避免的破坏细胞聚合体结构。这也是为什么类器官技术在癌症领域尤其火热的一大原因。

此时,如何促进干酪样坏死核心的形成,就成为了能否在2D甚至3D细胞培养基中构建出具有复杂结构肉芽肿的基础问题。目前,尚未有相关报道宣布解决了这一问题。

3.2 具有不同MHC限制性的PBMC与TB共培养时的排斥问题 如果能顺利解决上述问题,随之而来的另一个核心问题:PBMC与TB在类器官环境中共培养需要考虑MHC的限制。在加入丝裂原或一些细胞刺激因子后,PBMC可在培养基中存活14 d左右,能够符合前文的提到的培养基模型的需求,包括体外肺组织模型。但干酪样坏死核心形成最基本的要求是泡沫巨噬细胞不断地产生与死亡,那么如何保证上一轮旧的单核巨噬细胞与新一轮细胞在培养基中共存,就成了另一大难题。出于伦理限制,无法向某一个体要求长期提供足量外周血进行实验或长时间大量杀害同一品系的小鼠取血,而使用如牛羊等大型哺乳类动物的血液又缺乏合适的实验器材及试剂支撑。因此,这可能会比上一个问题更具挑战性。

4 小结

自2002年斑马鱼肉芽肿模型被提出以来,已有数种细胞和动物模型相继被开发并验证。然而,目前相关研究在构建肉芽肿模型时,主要聚焦于细胞的聚集和包裹体的形成,却往往忽略了使模型具备一定免疫性这一难点。此外,尽管相关研究已进行了二十多年,斑马鱼模型却仍是唯一能够完整观察干酪样坏死核心发展过程的模型。这其中一部分原因是许多文献对于各类肉芽肿的定义为细胞的集合体^[39-40];更重要的原因在于,构建出这样一个模型,需要充分考虑到结核肉芽肿本身的高度异质性和动态性^[41],这本身就具有很高的难度。

尽管细胞模型在微环境复杂度和坏死核心的显现上不如动物模型,但由于成本低廉且易于操作的特点,使其成为观察MTB与细胞互作的常用方法。对于研究干酪样坏死核心及肉芽肿发生发展过程,如肉芽肿破溃等,动物模型尤其是C3HeB/FeJ小鼠感染模型则是最佳选择。

类器官技术的出现为众多疾病的研究提供了更加精细的模型,但在展现多细胞互作及复杂性方面存在一定缺陷。同时由于细胞寿命的限制,相关研究往往侧重于短期维持和变量较少的实验设计^[42-44],这对于构建更加完善的肉芽肿模型仍然不足。尽管如此,类器官技术的现状已经并将继续为疾病研究提供新颖的思路和方法,推动更深入地探索疾病的本质和治疗方法。

【参考文献】

- [1] Organization W H. Guidelines for establishing DOTS-Plus pilot projects for the management of multidrug-resistant tuberculosis (MDR-TB)[R]: World Health Organization, 2000.
- [2] Etna M P, Giacomini E, Severa M, et al. Pro- and anti-inflammatory cytokines in tuberculosis: a two-edged sword in TB pathogenesis [J]. *Semin Immunol*, 2014, 26(6): 543-551.
- [3] Cohen SB, Gern BH, Delahaye JL, et al. Alveolar macrophages provide an early *Mycobacterium tuberculosis* niche and initiate dissemination [J]. *Cell Host Microbe*, 2018, 24(3): 439-446. e4.
- [4] Chandra P, Grigsby SJ, Philips JA. Immune evasion and provocation by *Mycobacterium tuberculosis* [J]. *Nat Rev Microbiol*, 2022, 20(12): 750-766.
- [5] Ravessloot-Chavez MM, Van Dis E, Stanley SA. The innate immune response to *Mycobacterium tuberculosis* infection [J]. *An Rev Immunol*, 2021, 39: 611-637.
- [6] Kotov DI, Lee OV, Fattinger S A, et al. Early cellular mechanisms of type I interferon-driven susceptibility to tuberculosis [J]. *Cell*, 2023, 186(25): 5536-5553. e22.
- [7] Zhai W, Wu F, Zhang Y, et al. The immune escape mechanisms of *Mycobacterium tuberculosis* [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(2): 10.3390/ijms20020340
- [8] Sreejit G, Ahmed A, Parveen N, et al. The ESAT-6 protein of *Mycobacterium tuberculosis* interacts with beta-2-microglobulin (β 2M) affecting antigen presentation function of macrophage [J]. *PLoS Pathog*, 2014, 10(10): e1004446.
- [9] Dou Y, Xie Y, Zhang L, et al. Host MKRN1-mediated mycobacterial PPE protein ubiquitination suppresses innate immune response [J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 880315.
- [10] 曹建, 张媛梅, 黄红梅, 等. miR-451a 调控 TLR4 信号通路参与结核分枝杆菌感染机制的研究 [J]. *中国病原生物学杂志*, 2022, 17(9): 10771081.
- [11] Ehlers S, Schaible UE. The granuloma in tuberculosis: dynamics of a host-pathogen collusion [J]. *Front Immunol*, 2012, 3: 411.
- [12] Flynn JL, Chan J, Lin PL. Macrophages and control of granulomatous inflammation in tuberculosis [J]. *Mucosal Immunol*, 2011, 4(3): 271-278.
- [13] Allue-Guardia A, Garcia JJ, Torrelles JB. Evolution of drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* strains and their adaptation to the human lung environment [J]. *Front Microbiol*, 2021, 12: 612675.
- [14] Lin PL, Ford CB, Coleman MT, et al. Sterilization of granulomas is common in active and latent tuberculosis despite within-host variability in bacterial killing [J]. *Nat Med*, 2014, 20(1): 75-79.
- [15] Gideon HP, Phuah J, Myers AJ, et al. Variability in tuberculosis granuloma T cell responses exists, but a balance of pro- and anti-

- inflammatory cytokines is associated with sterilization [J]. *PLoS Pathog*, 2015, 11(1):e1004603.
- [16] Cadena AM, Fortune SM, Flynn JL. Heterogeneity in tuberculosis [J]. *Nat Rev Immunol*, 2017, 17(11):691-702.
- [17] McCaffrey EF, Donato M, Keren L, et al. The immunoregulatory landscape of human tuberculosis granulomas [J]. *Nat Immunol*, 2022, 23(2):318-329.
- [18] Marakalala MJ, Raju RM, Sharma K, et al. Inflammatory signaling in human tuberculosis granulomas is spatially organized [J]. *Nat Med*, 2016, 22(5):531-538.
- [19] Organization WH. WHO consolidated guidelines on tuberculosis. Module 4: treatment-drug-susceptible tuberculosis treatment [M]. World Health Organization, 2022.
- [20] Kapoor N, Pawar S, Sirakova TD, et al. Human granuloma in vitro model, for TB dormancy and resuscitation [J]. *PLoS One*, 2013, 8(1):e53657.
- [21] Guirado E, Mbawuike U, Keiser TL, et al. Characterization of host and microbial determinants in individuals with latent tuberculosis infection using a human granuloma model [J]. *mBio*, 2015, 6(1):e02537-14.
- [22] Silva-Miranda M, Ekaza E, Breiman A, et al. High-content screening technology combined with a human granuloma model as a new approach to evaluate the activities of drugs against *Mycobacterium tuberculosis* [J]. *Antimicrob Agents Chemotherapy*, 2015, 59(1):693-697.
- [23] Arbues A, Schmidiger S, Kammüller M, et al. Extracellular matrix-induced GM-CSF and hypoxia promote immune control of *Mycobacterium tuberculosis* in human *in vitro* granulomas [J]. *Front Immunol*, 2021, 12:727508.
- [24] Crouser ED, White P, Caceres EG, et al. A novel in vitro human granuloma model of sarcoidosis and latent tuberculosis infection [J]. *Am J Resp Cell Mol Biol*, 2017, 57(4):487-498.
- [25] Puissegur MP, Botanch C, Duteyrat JL, et al. An in vitro dual model of mycobacterial granulomas to investigate the molecular interactions between mycobacteria and human host cells [J]. *Cell Microbiol*, 2004, 6(5):423-433.
- [26] Nakamizo S, Sugiura Y, Ishida Y, et al. Activation of the pentose phosphate pathway in macrophages is crucial for granuloma formation in sarcoidosis [J]. *J Clin Invest*, 2023, 133(23):e171088.
- [27] Dunlap MD, Howard N, Das S, et al. A novel role for C-C motif chemokine receptor 2 during infection with hypervirulent *Mycobacterium tuberculosis* [J]. *Mucosal Immunol*, 2018, 11(6):1727-1742.
- [28] Ramey ME, Kaya F, Bauman AA, et al. Drug distribution and efficacy of the DprE1 inhibitor BTZ-043 in the C3HeB/FeJ mouse tuberculosis model [J]. *Antimicrobial Agents Chemotherapy*, 2023, 67(11):e0059723.
- [29] Foss CA, Ordonez AA, Naik R, et al. PET/CT imaging of CSF1R in a mouse model of tuberculosis [J]. *Eur J Nuc Med Mol Imag*, 2022, 49(12):4088-4096.
- [30] Corleis B, Bastian M, Hoffmann D, et al. Animal models for COVID-19 and tuberculosis [J]. *Front Immunol*, 2023, 14:1223260.
- [31] Davis JM, Clay H, Lewis JL, et al. Real-time visualization of *Mycobacterium*-macrophage interactions leading to initiation of granuloma formation in zebrafish embryos [J]. *Immunity*, 2002, 17(6):693-702.
- [32] van Alen I, Aguirre Garcia MA, Maaskant JJ, et al. *Mycobacterium tuberculosis* β -lactamase variant reduces sensitivity to ampicillin/avibactam in a zebrafish-*Mycobacterium marinum* model of tuberculosis [J]. *Sci Re*, 2023, 13(1):15406.
- [33] Saelens JW, Sweeney MI, Viswanathan G, et al. An ancestral mycobacterial effector promotes dissemination of infection [J]. *Cell*, 2022, 185(24):4507-4525. e18.
- [34] Manabe YC, Kesavan AK, Lopez-Molina J, et al. The aerosol rabbit model of TB latency, reactivation and immune reconstitution inflammatory syndrome [J]. *Tuberculosis (Edinburgh, Scotland)*, 2008, 88(3):187-196.
- [35] Flynn JL. Lessons from experimental *Mycobacterium tuberculosis* infections [J]. *Microbes Infect*, 2006, 8(4):1179-1188.
- [36] Parasa VR, Rahman MJ, Ngyuen Hoang AT, et al. Modeling *Mycobacterium tuberculosis* early granuloma formation in experimental human lung tissue [J]. *Dis Model Mech*, 2014, 7(2):281-288.
- [37] Simian M, Bissell MJ. Organoids: A historical perspective of thinking in three dimensions [J]. *The Journal of cell biology*, 2017, 216(1):31-40.
- [38] Parikka M, Hammaren MM, Harjula SK, et al. *Mycobacterium marinum* causes a latent infection that can be reactivated by gamma irradiation in adult zebrafish [J]. *PLoS Pathog*, 2012, 8(9):e1002944.
- [39] Flynn JL, Chan JF, Lin PL. Macrophages and control of granulomatous inflammation in tuberculosis [J]. (1935-3456 (Electronic)).
- [40] Pagan AJ, Ramakrishnan L. The formation and function of granulomas [J]. *An Rev Immunol*, 2018, 36:639-665.
- [41] Cohen SB, Gern BH, Urdahl KB. The tuberculous granuloma and preexisting immunity [J]. *An Rev Immunol*, 2022, 40:589-614.
- [42] Sachs N, Papaspyropoulos A, Zomer-van Ommen DD, et al. Long-term expanding human airway organoids for disease modeling [J]. *EMBO J*, 2019, 38(4):e100300.
- [43] Holokai L, Chakrabarti J, Broda T, et al. Increased programmed death-ligand 1 is an early epithelial cell response to *Helicobacter pylori* infection [J]. *PLoS Pathog*, 2019, 15(1):e1007468.
- [44] Vazquez-Armendariz AI, Tata PR. Recent advances in lung organoid development and applications in disease modeling [J]. *J Clinical Invest*, 2023, 133(22):e170500.

【收稿日期】 2024-04-30 【修回日期】 2024-07-20