

〈総 説〉

3次元ヒト肺組織モデルの呼吸器感染症研究における有用性

輪島丈明

名城大学薬学部微生物学研究室

(2022年3月2日受付)

昨今、新型コロナウイルスが猛威を振っているが、細菌感染症においては薬剤耐性菌が世界的な問題となっている。細菌感染症の治療薬である抗菌薬の評価は、従来人工培地を用いて行われてきた。一方で、人工培地を用いた評価と生体内での活性には乖離があることも知られている。このことは、これまで無効とされてきた化合物群にも生体内では効果があるものが含まれている可能性を示している。すなわち、ヒト生体内に近い条件で薬物の評価ができれば、この乖離を減らし、より正確な評価が可能となる。生体内に近い評価法として、動物実験がある。しかしながら、実験動物を用いた場合、種差の問題に加え倫理的問題が生じる。そこで、近年ヒト由来の培養細胞を3次元構築した3次元ヒト組織モデルが注目されている。本モデルは、種差、倫理の問題がないことに加え、通常的人工培地や単層の培養細胞を用いた実験よりも生体内に近い。このモデルを用いて感染症を *in vitro* で再現し、感染モデルを用いて治療薬の評価をすることにより、ヒトの生体内に近い環境条件下で薬物の評価をすることができると考えられる。本稿では、3次元組織モデルの特徴や作成法に加え、我々が現在行っている呼吸器感染症起炎菌の感染モデルや今後の展望についてまとめる。

序文

感染症治療薬の探索におけるスクリーニングや効果の評価は、人工培地を用いた *in vitro* 試験が主流である。特に、抗菌薬の薬剤感受性の指標として使用される最小発育阻止濃度 minimum inhibitory concentration (MIC) の測定は、ほとんどすべての医療機関で実施されていると言っても過言ではない。しかしながら、*in vitro* の成績は必ずしも *in vivo* の治療成績と相関しないという報告もある^{1,2)}。実際に、MIC測定の結果に基づき、

ある抗菌薬に対して感受性と判定された菌による感染症の90%にその抗菌薬は有効である一方で、耐性と判定されたものの60%にも治療効果があったというような「90-60 rule」という現象も示されている³⁾。そのため、より生体内を反映した評価系の構築が必要とされている。

生体内を反映した評価系として、マウスやラットなどを用いる動物実験がある。動物実験は、Kochの4原則にも象徴されるように、原因微生物の決定や発症機構の解明に大きく寄与してきた。しかしながら、動物実験では、微生物に対する体系的な生体反応を観測できる反面、動物に感染症

に罹患するという苦痛を与えうることや命を奪うという倫理的な問題がある。また、ヒトとの種差から、必ずしもヒトで認められる反応を示さないことなどもある⁴⁾。実際に、動物を用いた前臨床試験で良好な成績を収めた薬物でも、ヒトに応用した場合、失敗したという例も多い⁴⁾。加えて、動物実験はその倫理的な側面から、多くの化合物を網羅的に用いて感染症治療薬の探索を行うというようなスクリーニング系での使用は不適である。そこで、最近ヒト由来細胞を用いた3次元培養法が注目されている。この手法は、複数種類の培養細胞を特殊な条件下で3次元的に培養しヒトの疑似組織を *in vitro* で作成する方法である。本稿では、ヒトの生体内に即したシステムである3次元組織モデルの中で肺組織モデルに注目し、呼吸器感染症領域における応用や有用性について論じる。

1. 呼吸器感染症起炎菌研究における感染モデル

我々は、これまで呼吸器感染症起炎菌である *Streptococcus pneumoniae* や *Haemophilus influenzae* の分子疫学や薬剤耐性、病原性に関する研究を行ってきた^{5~8)}。病原性の評価を行う上で、感染モデルの構築は非常に重要である。しかし、これらの菌は、主にヒトに感染症を引き起こし、実験動物で感染症を再現するのが非常に困難であった。これらの菌のチンチラを用いた中耳炎モデルも存在するが、実験動物としての入手が困難であることから、どこでもできるものではないことに加え、このモデルは必ずしも呼吸器感染症の病態を表しているとは言えない^{9,10)}。同様のことはヒトに感染する病原体の多くに当てはまり、動物実験では適切に感染症を再現するモデルが作成できないものも多い^{11,12)}。

また、*S. pneumoniae* や *H. influenzae* は、薬剤耐性菌の出現・拡散も問題となっており、新たな抗

表1. 感染モデルに使用される各手法の特徴

	Animal		Cell culture (monolayer)	<i>Ex vivo</i> human model	3D tissue model
	Not human	Human	Human	Human	Human
Cell-to-cell interactions	◎	△	○	○	○
Reproducibility	△	◎	△	◎	◎
Ethical issue	Yes	No	Yes	No	No
Usable for screening	×	○	×	○	○

菌薬や治療薬の開発も必要とされている。最近、人工培地を用いて測定した抗菌薬感受性試験において、効果がないとされた薬物の一部が、生体内では有効であることが報告された^{1,2)}。すなわち、これまで無効とされてきた化合物群の中に、生体内では有効な薬物が存在する可能性がある。このような薬物も、感染症を適切に再現するモデルを用いれば正確な効果判定ができると考えられる。

表1には、既存の感染実験系を示した。動物実験では、先述した種差に加え、倫理的問題や個体差による結果のばらつきがある。そのため、限られた量の治療薬の評価を行うことは可能ではあるが、多くの化合物をスクリーニングするなど大規模な実験に使用することができない。単層(2次元)培養の培養細胞系は、比較的安価かつ再現性が高いことに加え、種やスクリーニング系への使用、倫理問題の点で優れているため、広く病原性評価に使用されてきた。しかしながら、単一の培養細胞であるため、細胞間の相互作用を見ることができないことや、細胞に極性がないこと、同種細胞との接触が多いことが影響し、元の表現型や機能を失っていることが多い^{13~15)}。また、ヒト由来の実際の組織を用いた *ex vivo* 実験系は、種差の面はクリアしているが、倫理委員会での承認やインフォームド・コンセント取得が必要になることに加え、ドナーや処置のタイミングに左右されるため、安定的に研究や試験に供試すること

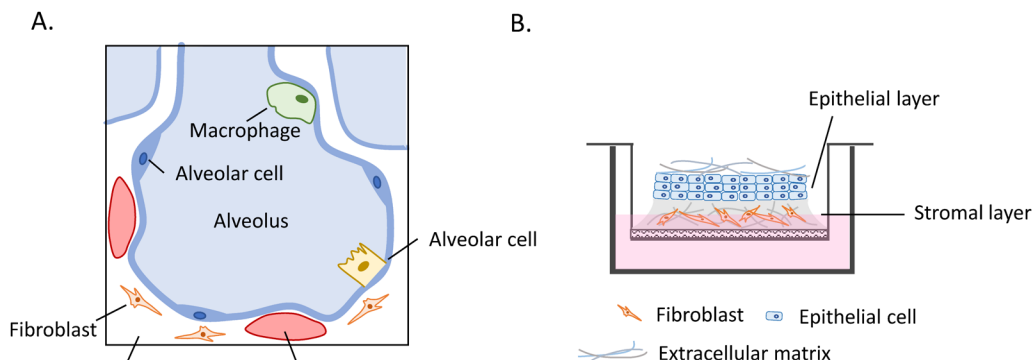
ができない。これらに対して、3次元組織モデルでは、ヒト由来の複数の株化培養細胞を用いるため、倫理的問題がない。さらに、上皮細胞を細胞外マトリックスや線維芽細胞のような他の細胞と混合し培養することで、細胞間相互作用や極性が生じるため生体内の反応に近い条件を作出することができる^{16,17)}。また、常に同じ細胞を用いるため再現性の面でも優れている。そのため、常に安定的に研究・試験を行うことができ、場合によっては、規模の大きなスクリーニングに使用することも可能である。単一の上皮細胞からなる3次元培養も存在するが、先述したように異なる種類の細胞間の相互作用が正常組織を再現する上で重要であると言われている¹⁸⁾。

2. 3次元ヒト肺組織モデルの作成法

ヒトの肺胞断面は、図1Aに示すような構造をとっている。肺実質には、肺胞上皮細胞や肺胞マクロファージなどが存在する。このうち、肺胞上皮はコラーゲン線維が密集した粘膜固有層に支持されている。粘膜固有層には、免疫担当細胞や線維芽細胞、血管、リンパ管などが存在し間質層を形成している。3次元肺組織モデルは、上皮から粘膜固有層を試験管内で再現するものである（図1B）。

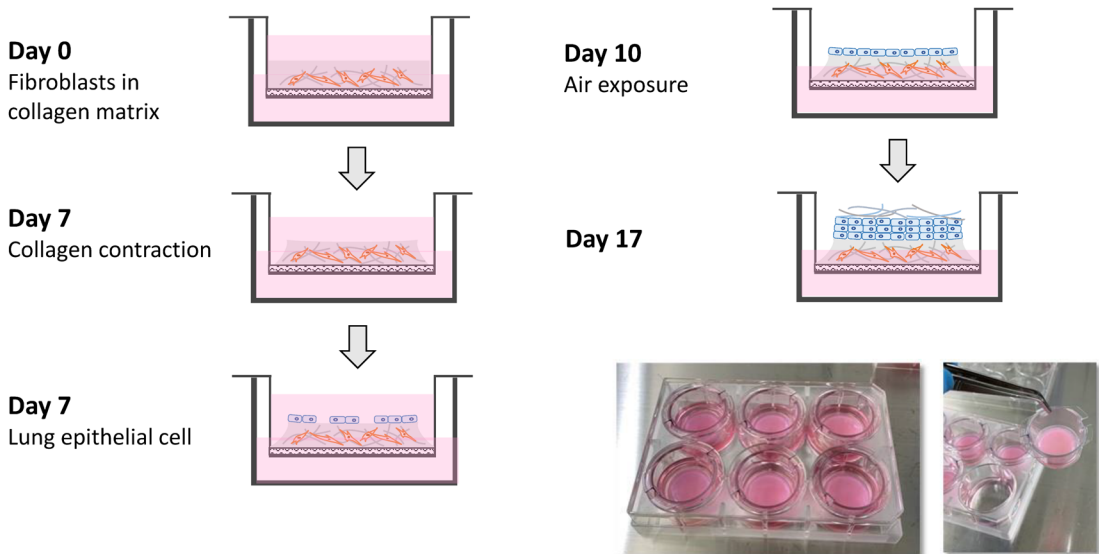
本モデルは、様々な方法で作成されている^{19~21)}。一例として、我々が作成したモデルを示す（図2）。我々は、ヒト肺線維芽細胞株MRC-5と上皮細胞としてヒト気管支上皮細胞株16HBE-14oを用いた組織モデルを作成している¹⁹⁾。肺線維芽細胞は、細胞外基質マトリックスの産生や構造の支持機能を担っているだけでなく、肺の炎症反応において重要な役割を担っていることが知られている^{16,17)}。本モデルでは、間質層を形成するべくカルチャーインサート上に足場となるコラーゲンマトリックスと肺線維芽細胞を混合し播種する。単層培養時の線維芽細胞は、平面に広がった形態をとるのに対し、3次元培養した線維芽細胞は、四方八方に広がる形態をとる。また、3次元培養中の肺線維芽細胞は、TNF- α に対する応答性なども単層培養より生体内と類似していることが示されている²²⁾。細胞培養用培地中で1週間培養するとコラーゲンの収縮が生じ、間質層が形成される。その上に上皮層を形成するための16HBE-14o細胞を重層し、空気に暴露させることで極性が生じ肺組織モデルが完成する（図2）。この段階で、細胞間や足場となる間質層との相互作用により、上皮細胞の表現型が規定される。我々が用いている16HBE-14o細胞は健常者に由来する株であり、生体組織に類似した上皮バリアやタイトジャンクションを形成する

図1. ヒトの肺胞組織と3次元ヒト肺組織モデルの構造



A, 肺胞の断面の模式図；B, 6 well plate 上に作成した3次元肺組織モデルの断面図

図2. 3次元肺組織モデルの作成法



6 wellプレートとカルチャーインサートを用いインサート上に組織を作成する

ことが知られている²⁰⁾。作成した組織モデルの凍結切片を作成し、ヘマトキシリン・エオジン染色を行うと、明確な上皮層と間質層に加え、それらの間に基底膜が観察できる (図3B)。

実際の肺組織には、マクロファージ、単球や樹状細胞といった免疫系細胞が存在しており、恒常性や炎症を制御する重要な役割を担っている²³⁾。そこで、3次元肺組織モデルにおいても、単球や樹状細胞を導入したモデルが作成されている^{20,24,25)}。このモデルでは、上皮細胞を重層する直前のタイミングで免疫系細胞を添加する。モデルに添加された樹状細胞は、生体内と同様の表現型を保持しており、CCL18のようなヒトの肺組織内で認められるケモカインなどの産生が起こることが報告されている²⁰⁾。すなわち、免疫系細胞を含有するモデルを用いれば、より詳細な免疫応答を解析することができる。

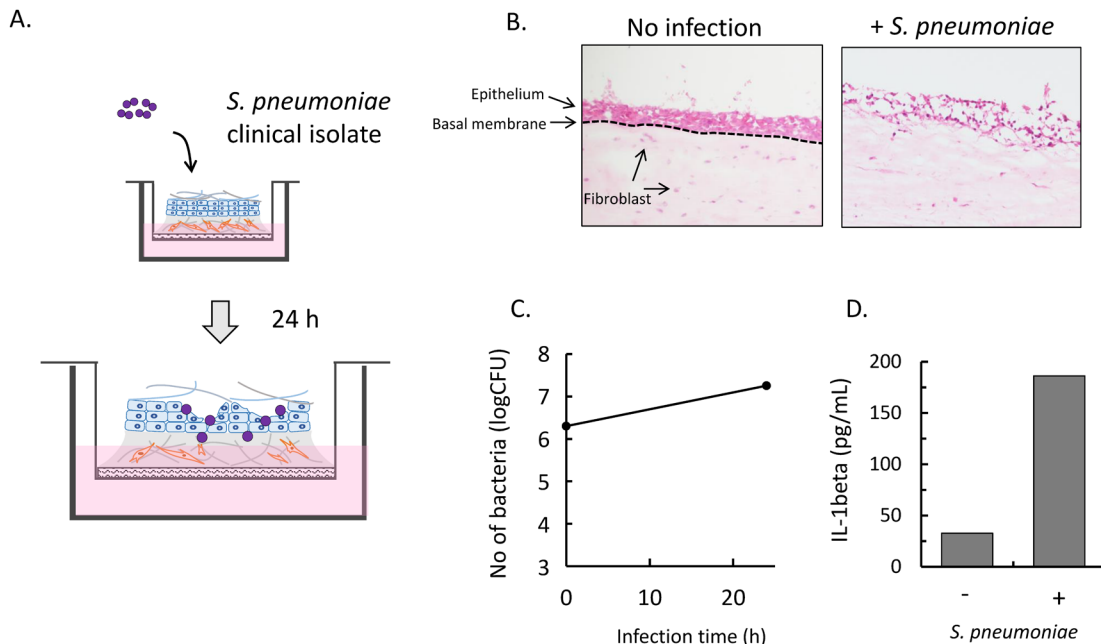
3. 3次元肺組織モデルに対する感染実験

肺組織モデルを用いた感染実験では、感染後組

織の薄層切片を作成し各種染色を行うことで、組織の損傷度合いや病原体の局在を示すことができる。また、感染組織を溶解し細菌培養用培地で培養することで組織上の菌数測定を行うことも可能である。さらに、カルチャーインサートの下層の培地中に放出されるサイトカインの定量や感染組織からRNAを抽出し宿主側、細菌側双方の因子の転写量を網羅的に解析すること、コラゲナーゼ処理により細胞を分離させセルソーターを用いた解析に供試することも可能である。実際にこれまで、*Mycobacterium tuberculosis* や Panton-Valentine leukocidin 産生 *Staphylococcus aureus*, ハンタウイルス感染症のモデルに使用されてきた^{19,25-27)}。これらの研究においても、生体内と類似した感染症の病態を表すことが明らかになっている。

我々は、汎用性を重視し、免疫細胞を含まない3次元肺組織モデルを用いることとした。このモデルに対し、重症肺炎由来 *S. pneumoniae* 臨床分離株を上皮層側から感染させた (図3A)。感染24時間後に、組織の凍結切片を作成しヘマトキシリン・エオジン染色を行うとともに、組織上の細菌

図3. 3次元肺組織モデルに対する肺炎球菌感染実験例



A, 感染実験のスキーム；B, 肺炎球菌感染後24時間後の組織を用いたHE染色像；C, 組織上の菌数；D, IL-1βの産生量

数の測定とELISA法で炎症性サイトカイン産生量を定量した。その結果、肺炎球菌を感染したモデルで上皮層の障害が認められ、菌数の増加も認められた(図3B, C)。この障害は、感染菌数に依存して増加していた(Data not shown)。この時、図3Dには代表例としてIL-1βの成績を示したが、炎症性サイトカインも非感染時と比較し多く分泌されていた(図3D)。IL-1βは肺炎球菌感染時によく認められるサイトカインであるため、これらの結果は肺炎球菌が組織に感染したことならびに組織の*S. pneumoniae*に対する応答を示していると考えられる。本感染モデルについては、菌株や菌数の調整などさらなる最適化が必要であるが、この結果は*S. pneumoniae*の病原性研究において有用であることを示唆している。ここでは*S. pneumoniae*の成績を示したが、本モデルは原理上ヒトに感染するすべての病原体の感染実験が可能である。すなわち、新型コロナウイルス(SARS-CoV2)のような、未知の病原体が出現した際も迅

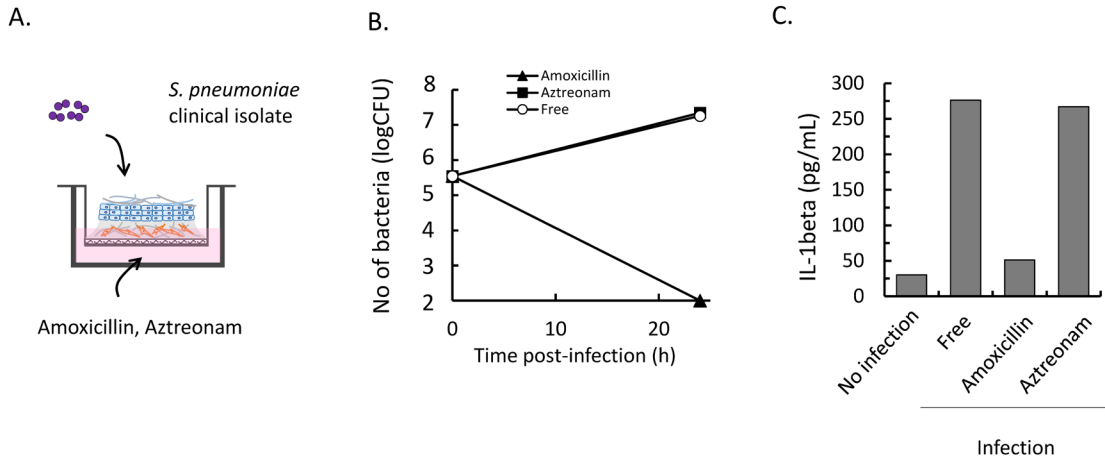
速に感染させ、その病態を詳細に検討することが実現可能となるかもしれない。

4. 治療薬の評価系としての3次元肺組織モデル

我々のグループでは、以前肺組織モデルと類似した方法で作出する3次元皮膚組織モデルを用いた*Streptococcus pyogenes*の感染実験系を用いて、抗菌薬の有効性評価を行い、実臨床で認められる結果と一致していることを報告した²⁸⁾。本稿のテーマである3次元肺組織モデルでも、既報のものと同様にヒトにおける感染病態の一端を再現できることが示唆されたため、このモデルを応用することで治療効果を指標とした、薬物の評価系を構築できるのではないかと着想した。

そこで、先述した*S. pneumoniae*感染モデルに対し、各種抗菌薬の添加を行い、効果の判定を行った。ここでは、*S. pneumoniae*感染症に対して、通常治療薬として使用されるamoxicillinと*S. pneumoniae*に抗菌活性を示さないaztreonamの成

図4. 3次元肺組織肺炎球菌感染モデルに対する抗菌薬投与効果



A, 感染実験のスキーム；B, 組織上の菌数；C, 放出されたIL-1β量

績を示した。肺組織モデルに対し、先述したように *S. pneumoniae* 臨床分離株を上皮層側から感染させ、感染2時間後に最高血中濃度の半量の抗菌薬をインサートの下層に添加した (図4A)。そして、24時間後の菌数ならびにサイトカイン分泌量の評価を行った (図4B, C)。その結果、amoxicillin では、検出限界以下まで殺菌された一方で、aztreonam では抗菌薬非添加時と同様の増加を示した。さらに、IL-1βの分泌についても、amoxicillin 投与群では非感染時と同様であった。また、組織の障害も amoxicillin では改善されていた (Data not shown)。これらの成績は、本モデルで治療薬の評価ができる可能性が示唆している。本評価系については、臨床における治療成績との相関についての検討や、治療薬の投与量の設定、抗菌薬投与のタイミングなど検討すべき内容は多岐にわたるが、この評価系を用いれば、菌の増殖抑制や殺菌以外の指標でも薬物の評価を行うことができると考えられる。先述したように、本モデルは、様々な病原体の感染実験に応用可能である。そのため、薬物の評価だけでなく、化合物ライブラリーや天然物ライブラリーなどからこれらの効果を指標とした新規治療薬の探索にも応用可

能であることが期待される。

結語

本モデルは、*in vitro* かつよりヒトに近い条件で感染症を再現し、薬物の評価を行うことができるために非常に有用であると考えられる。また一方で、本モデルは改良の余地も残している。例えば、複数の免疫担当細胞を添加したり、下層に脂肪組織を添加したりすることでさらにヒトに近い環境を作出することが可能となるかもしれない。また、実際生体内では常在菌も存在しているため、常在菌株を用いて常在状態などを再現した上で感染を起こすようなモデルも重要であると考えられる。このようにヒトの感染症を、*in vitro* で再現できるようになることは、薬物の抗菌効果以外の治療効果を指標とした評価系の構築につながる。また、これらは動物実験の削減にも寄与しうるため、動物愛護の観点からも有用となる。

最近では3次元培養法を応用し tip 上に組織を構築する organ-on-tip 技術が開発されている²⁹⁻³¹⁾。また、iPS 細胞を用いて肺組織を作成するオルガノイドといった技術の発展も著しい^{32,33)}。事実、

様々なオルガノイドに新型コロナウイルスを感染させ、感染臓器の指向性を調べるという実験も行われている^{34,35)}。現状、オルガノイドは、培養手技やコストなど、導入におけるハードルが比較的高い。しかしながら、簡便かつどのような研究者でも使えるようになるとその手法が主流になっていく可能性もある。このような技術は日々進歩している。新型コロナウイルス感染症の流行にも表されるように、いつ何時新たな感染症が流行するかは予想ができない。そのような場合にも対応できるように、再生医学などの手法を応用し感染モデルの構築やその評価を進めていく必要があると考えられる。

謝辞

本総説は、第23回日本感染症医薬品協会奨励賞の受賞内容をまとめたものです。これまで直接ならびに共同研究等でご指導いただきました先生方、本賞の選考委員の先生方に心より感謝申し上げます。また、本研究実施にあたり協力いただいた東京薬科大学大学院博士課程の田中愛海氏、カロリンスカ研究所 Mattias Svensson 博士、Anna Norrby-Teglund 博士に深謝いたします。

利益相反

利益相反自己申告：申告すべきものなし

引用文献

- 1) Ersoy SC, Heithoff DM, Barnes Lt, *et al.*: Correcting a fundamental flaw in the paradigm for antimicrobial susceptibility testing. *EBioMedicine*. 2017; 20: 173–81.
- 2) Lin L, Nonejuic P, Munguia J, *et al.*: Azithromycin synergizes with cationic antimicrobial peptides to exert bactericidal and therapeutic activity against highly multidrug-resistant gram-negative bacterial pathogens. *EBioMedicine*. 2015; 2: 690–8.
- 3) Rex JH, Pfaller MA: Has antifungal susceptibility testing come of age? *Clin Infect Dis*. 2002; 35: 982–9.
- 4) Holmes AM, Solari R, Holgate ST: Animal models of asthma: value, limitations and opportunities for alternative approaches. *Drug Discov Today*. 2011; 16: 659–70.
- 5) Tanaka E, Hirai Y, Wajima T, Ishida Y, Kawamura Y, Nakaminami H: High-level quinolone-resistant *Haemophilus haemolyticus* in pediatric patient with no history of quinolone exposure. *Emerg Infect Dis*. 2022; 28: 104–10.
- 6) Wajima T, Ishikawa H, Matsuzawa AI, *et al.*: *pspK* acquisition contributes to the loss of capsule in pneumococci: molecular characterisation of non-encapsulated pneumococci. *Microbes Infect*. 2020; 22: 451–6.
- 7) Tanaka E, Hara N, Wajima T, *et al.*: Emergence of *Haemophilus influenzae* with low susceptibility to quinolones and persistence in tosylflouxacin treatment. *J Glob Antimicrob Resist*. 2019; 18: 104–8.
- 8) Seyama S, Wajima T, Yanagisawa Y, *et al.*: Rise in *Haemophilus influenzae* with reduced quinolone susceptibility and development of a simple screening method. *Pediatr Infect Dis J*. 2017; 36: 263–6.
- 9) Giebink GS: Otitis media: the chinchilla model. *Microb Drug Resist*. 1999; 5: 57–72.
- 10) Giebink GS, Payne EE, Mills EL, Juhn SK, Quie PG: Experimental otitis media due to *Streptococcus pneumoniae*: immunopathogenic response in the chinchilla. *J Infect Dis*. 1976; 134: 595–604.
- 11) Loffler B, Hussain M, Grundmeier M, *et al.*: *Staphylococcus aureus* panton-valentine leukocidin is a very potent cytotoxic factor for human neutrophils. *PLoS Pathog*. 2010; 6: e1000715.
- 12) Birkness KA, Deslauriers M, Bartlett JH, White EH, King CH, Quinn FD: An *in vitro* tissue culture bilayer model to examine early events in *Mycobacterium tuberculosis* infection. *Infect Immun*. 1999; 67: 653–8.
- 13) Nam KH, Smith AS, Lone S, Kwon S, Kim DH: Biomimetic 3D tissue models for advanced high-throughput drug screening. *J Lab Autom*.

- 2015; 20: 201–15.
- 14) Ho WJ, Pham EA, Kim JW, *et al.*: Incorporation of multicellular spheroids into 3-D polymeric scaffolds provides an improved tumor model for screening anticancer drugs. *Cancer Sci.* 2010; 101: 2637–43.
 - 15) Roskelley CD, Desprez PY, Bissell MJ: Extracellular matrix-dependent tissue-specific gene expression in mammary epithelial cells requires both physical and biochemical signal transduction. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1994; 91: 12378–82.
 - 16) Choe MM, Sporn PH, Swartz MA: Extracellular matrix remodeling by dynamic strain in a three-dimensional tissue-engineered human airway wall model. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2006; 35: 306–13.
 - 17) Tomasek JJ, Gabbiani G, Hinz B, Chaponnier C, Brown RA: Myofibroblasts and mechano-regulation of connective tissue remodelling. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2002; 3: 349–63.
 - 18) Pampaloni F, Reynaud EG, Stelzer EH: The third dimension bridges the gap between cell culture and live tissue. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2007; 8: 839–45.
 - 19) Mairpady Shambat S, Chen P, Nguyen Hoang AT, *et al.*: Modelling staphylococcal pneumonia in a human 3D lung tissue model system delineates toxin-mediated pathology. *Dis Model Mech.* 2015; 8: 1413–25.
 - 20) Nguyen Hoang AT, Chen P, Juarez J, *et al.*: Dendritic cell functional properties in a three-dimensional tissue model of human lung mucosa. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2012; 302: L226–37.
 - 21) Sharma M, Anderson SA, Schoop R, Hudson JB: Induction of multiple pro-inflammatory cytokines by respiratory viruses and reversal by standardized Echinacea, a potent antiviral herbal extract. *Antiviral Res.* 2009; 83: 165–70.
 - 22) Htwe SS, Harrington H, Knox A, *et al.*: Investigating NF-kappaB signaling in lung fibroblasts in 2D and 3D culture systems. *Respir Res.* 2015; 16: 144.
 - 23) Condon TV, Sawyer RT, Fenton MJ, Riches DW: Lung dendritic cells at the innate-adaptive immune interface. *J Leukoc Biol.* 2011; 90: 883–95.
 - 24) Chandorkar P, Posch W, Zaderer V, *et al.*: Fast-track development of an in vitro 3D lung/immune cell model to study *Aspergillus* infections. *Sci Rep.* 2017; 7: 11644.
 - 25) Parasa VR, Rahman MJ, Ngyuen Hoang AT, Svensson M, Brighenti S, Lerm M: Modeling *Mycobacterium tuberculosis* early granuloma formation in experimental human lung tissue. *Dis Model Mech.* 2014; 7: 281–8.
 - 26) Sundstrom KB, Nguyen Hoang AT, Gupta S, Ahlm C, Svensson M, Klingstrom J: Andes Hantavirus-infection of a 3D human lung tissue model reveals a late peak in progeny virus production followed by increased levels of proinflammatory cytokines and VEGF-A. *PLoS One.* 2016; 11: e0149354.
 - 27) Braian C, Svensson M, Brighenti S, Lerm M, Parasa VR: A 3D human lung tissue model for functional studies on *Mycobacterium tuberculosis* infection. *J Vis Exp.* 2015: 53084.
 - 28) Bergsten H, Palma Medina LM, Morgan M, *et al.*: Adjunctive rifampicin increases antibiotic efficacy in group A streptococcal tissue infection models. *Antimicrob Agents Chemother.* 2021; 65: e0065821.
 - 29) Benam KH, Villenave R, Lucchesi C, *et al.*: Small airway-on-a-chip enables analysis of human lung inflammation and drug responses *in vitro*. *Nat Methods.* 2016; 13: 151–7.
 - 30) Huh D, Matthews BD, Mammoto A, Montoya-Zavala M, Hsin HY, Ingber DE: Reconstituting organ-level lung functions on a chip. *Science.* 2010; 328: 1662–8.
 - 31) Si L, Bai H, Rodas M, *et al.*: A human-airway-on-a-chip for the rapid identification of candidate antiviral therapeutics and prophylactics. *Nat Biomed Eng.* 2021; 5: 815–29.
 - 32) Jacob A, Morley M, Hawkins F, *et al.*: Differentiation of human pluripotent stem cells into functional lung alveolar epithelial cells. *Cell Stem Cell.* 2017; 21: 472–88 e410.
 - 33) Chen YW, Huang SX, de Carvalho A, *et al.*: A three-dimensional model of human lung development and disease from pluripotent stem

- cells. *Nat Cell Biol.* 2017; 19: 542–9.
- 34) Mallapaty S: Mini organs reveal how the coronavirus ravages the body. *Nature.* 2020; 583: 15–6.
- 35) Han Y, Duan X, Yang L, *et al.*: Identification of SARS-CoV-2 inhibitors using lung and colonic organoids. *Nature.* 2021; 589: 270–5.

3D human tissue culture model as a promising model for the study of respiratory infectious disease

Takeaki Wajima

Department of Microbiology, Faculty of Pharmacy, Meijo University

The recent COVID-19 pandemic has raised serious concerns regarding disease and human health. In terms of bacterial infection, antimicrobial resistance is a global issue that threatens to worsen infections. Antimicrobial agents used to treat bacterial infections have been evaluated with artificial media such as Mueller–Hinton medium. However, several reports show that data obtained from artificial media do not always correspond to reactions *in vivo*, suggesting that effective compounds may have been overlooked by conventional screening methods. If compounds are evaluated under conditions similar to those inside the human body, assessments of effective compounds may be made more accurate. Experimental animals have been employed as a method to provide *in vivo* information, but animal models may not translate across species and could, furthermore, create ethical issues around their use. 3D organotypic tissue models have attracted attention in this context. As these models are composed of human culture cell lines, problems surrounding species compatibility and ethics can be avoided. In addition, the state of the model is closer to that of the human body than either monolayer cell culture or artificial media. The 3D tissue model can thus be used to reproduce infectious diseases *in vitro*, as well as evaluate therapeutic drugs under environmental conditions similar to those found in the human body. This review summarizes the characteristics of the 3D tissue model and its construction method and discusses current infection models for respiratory tract infections.