

黄涛,张海涛,李志雄,等. 非人灵长类动物在病毒感染模型中的研究进展 [J]. 中国实验动物学报, 2021, 29(2): 248-255.
Huang T, Zhang HT, Li ZX, et al. Research progress in non-human primate virus infection models [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2021, 29(2): 248-255.
Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2021.02.016

非人灵长类动物在病毒感染模型中的研究进展

黄涛^{1,2,3}, 张海涛^{1,2,3}, 李志雄², 曹华^{2,3*}, 王心睿^{2,3*}

(1. 福建省儿童医院,福州 350011; 2. 福建医科大学附属福建省妇幼保健院国家卫健委非人灵长类生育调节技术评价重点实验室,福州 350001; 3. 福建医科大学附属福建省妇幼保健院医学研究中心,福州 350001)

【摘要】 动物疾病模型作为研究人类疾病的中介,在医学研究中发挥着巨大的作用。非人灵长类动物与人类的免疫学和生理学相似性,使非人类灵长类动物模型在研究病毒发病机理、免疫力、疫苗和药物抗感染功效等方面具有重要价值,对研究人类病毒感染性疾病以及新型冠状病毒如 SARS-CoV-2 的治疗和预防发挥着不可或缺的作用。本文主要介绍了非人灵长类动物作为实验动物模型在人类几种常见的病毒感染性疾病中的研究进展,以及在研究新型冠状病毒 SARS-CoV-2 中发挥的重要作用。

【关键词】 动物模型;非人灵长类动物;病毒感染模型

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-4847(2021) 02-0248-08

Research progress in non-human primate virus infection models

HUANG Tao^{1,2,3}, ZHANG Haitao^{1,2,3}, LI Zhixiong², CAO Hua^{2,3*}, WANG Xinrui^{2,3*}

(1. Fujian Children's Hospital, Fuzhou 350011, China. 2. Key Laboratory of Technical Evaluation of Fertility Regulation for Non-human Primate, National Health Commission, Fujian Maternity and Child Health Hospital, Affiliated Hospital of Fujian Medical University, Fuzhou 350001.

3. Medical Research Center, Fujian Maternity and Child Health Hospital, Fuzhou 350001)

Corresponding author: WANG Xinrui. E-mail:wanxiru@sjtu.edu.cn; CAO Hua. E-mail:caohua69@fjmu.edu.cn

【Abstract】 In the study of human diseases, animal models play a critical role in medical research. The immunological and physiological similarities between non-human primates and humans have prompted non-human primate models to be used to study virus pathogenesis, immunity, and the efficacy of vaccines and drugs. They play an indispensable role in the study of human viral infectious diseases, including emerging new viruses, such as SARS-CoV-2. In this article, we focus on the research progress in non-human primates as experimental animal models of several important human viral infectious diseases, including the important role of non-human primates in the study of SARS-CoV-2.

【Keywords】 animal models; non-human primates; virus infection model

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

非人灵长类动物(non-human primates, NHP)在生理、认知能力、神经解剖学、社会复杂性、繁殖和发育等方面与人类具有高度相似性^[1]。与人类的遗传

物质有 75% ~ 98.5% 的同源性^[2],这种同源性在基础和转化生物医学研究中发挥着重要的作用。啮齿类动物虽用途广泛,对回答许多基础研究问题非常有

【基金项目】 中央引导地方科技发展专项资金(2019L3019)。

Funded by the Chinese Central Government Guides Local Special Funds for Scientific and Technological Development(2019L3019).

【作者简介】 黄涛,男,硕士,研究方向:非人灵长类动物疾病模型及药物安全性评价。Email:ht562916161@163.com

【通信作者】 王心睿,男,博士,助理研究员,研究方向:表观遗传学。Email:wanxiru@sjtu.edu.cn;

曹华,男,博士,教授,主任医师,研究方向:先天性心脏病。Email:caohua69@fjmu.edu.cn。

* 共同通信作者

帮助,但由于缺乏灵巧的大脑结构,免疫系统和运动技能欠佳以及新陈代谢功能的差异等,限制了它们的用途。许多病原体(如流感、HIV 或登革热)对各自的宿主呈高度嗜性,用小鼠不能复制这种人类疾病,因此也限制了将小鼠用作某些传染病的模型^[3-4]。由于 NHP 与人类在生理和解剖学上的相似性,在某些方面的研究具有独特的优势和价值(表 1),尤其对病

原体的易感性,在病毒感染性疾病动物模型上更具有优势^[5],是研究人类传染病最广泛使用的动物模型^[6]。NHP 已经用于研究人类感染已有数十年的历史,在控制疾病参数和不受限制的组织获取能力的辅助下,在疫苗、药物治疗和其他免疫治疗方式的开发中发挥了重要作用。本文着重介绍 NHP 在病毒感染性疾病动物模型中的研究进展。

表 1 非人灵长类动物模型在生物医学研究领域的主要优势

Table 1 Major advantages of non-human primate models for the areas of biomedical research

研究领域 Area of research	非人灵长类动物模型优势 Advantages of non-human primates models
传染性疾病 Infectious disease	在传染性疾病感染具有极易感性 Very susceptible to infectious diseases
生殖学 Reproductive	生殖生理学方面的内分泌调节与人类具有相同的关键性特征,包括下丘脑反馈、卵巢功能、子宫和阴道的生理、妊娠以及绝经的建立与控制等方面 Endocrine regulation in reproductive physiology has the same key characteristics as humans, including hypothalamic feedback, ovarian function, physiology of the uterus and vagina, pregnancy, and the establishment and control of menopause
免疫学 Immunology	在免疫系统的发育成熟方面与人类最为相似 Most similar to humans in terms of the development and maturity of the immune system
神经科学 Neuroscience	NHP 大脑在几个方面与人的大脑非常相似,包括脑电生理、皮质神经元的数量和密度、额叶前额皮质大和髓鞘形成 NHP brain is very similar to the human brain in several aspects, including electrophysiology, the number and density of cortical neurons, the size of the frontal prefrontal cortex, and myelination
药理学 Pharmacology	具有与人相似的药物敏感性,并用于研究药物的个体差异等 Has drug sensitivity similar to humans, and is used to study individual differences in drugs
遗传学 Genetics	与人类具有相同的特定疾病相关的基本遗传过程,例如产生前列腺特异性抗原基因 KLK3 等 Have the same basic genetic process related to specific diseases as humans, such as the production of the prostate specific antigen gene KLK3
认知 Cognition	与其他哺乳动物相比,NHP 的大脑相对较大,对于测试人类认知进化模型具有无限的价值 Compared with other mammals, NHP has a relatively large brain, which is of infinite value for testing human cognitive evolution models
衰老 Senescence	与人类在衰老相关的脑功能专业化方面的相似性更高,例如核团、海马体的投射途径和神经支配方式 It is more similar to the specialization of human brain functions related to aging, such as the nucleus, the projection pathways of the hippocampus, and the innervation method
行为学 Behavior	与人类社会和环境复杂性的相似能够在行为学上进行社会学和心理学相关研究 Similar to the complexity of human society and environment, enabling sociological and psychological research in behavioral sciences

1 HIV 病毒感染模型

人类艾滋病(AIDS)是由 HIV 病毒引起,该病毒被细分为 HIV-1 型(M、N、O 和 P 亚型)和 HIV-2 型(A 至 I 亚型),其中 HIV-1 型中 M 亚型在世界上最普遍存在^[7]。通过猿猴/人类免疫缺陷病毒(SHIV)感染 NHP,能够模拟人类 HIV 感染的大多数病毒学、免疫学和临床标志,现已用来研究 HIV/AIDS 的传播、生理病理机制、免疫学和治疗干预措施的最合适模型^[8],促进了有关 cART(联合抗逆转录病毒疗法)治疗、免疫细胞耗竭效应、中和抗体的给药或产生、疫苗疗法和潜伏期逆转剂等的更深入研究^[9]。

病毒感染诱导产生的抗体(Abs)可被直接用作预防或治疗,并且间接地用于帮助指导抗 HIV 疫苗的设计^[10]。HIV 病毒通过快速突变表面抗原蛋白位点从而避免被体内免疫系统反应产生的抗体而消灭,而广义中和抗体(bnAbs)能够靶向这些病毒带有高度保守的功能相关暴露位点而发挥作用^[11]。通过 SHIV 感染的恒河猴,刺激宿主免疫反应产生的中和 HIV-1 特异性单克隆抗体具有强效的治疗效果^[12]。在非人灵长类动物中感染猿猴/人类免疫缺陷病毒(SHIV)能够像人类一样产生 bnAbs,这类 SHIV/NHP 感染的恒河猴模型可作为研究 bnAbs 的理想动物模型^[13],为 HIV-1 的单克隆抗体疗法提供研究思路。研究者从 HIV 感染者体内分离出单独

抗体,通过三元特异性中和抗体组合,从中找出了最佳的组合方式:VRC01 搭配 PGDM1400 和 10E8v4,(三种抗体分别与病毒的 CD4⁺结合位点,近膜外缘区域(MPER)和 V1V2 多糖位点结合),在 SHIV 非灵长类动物模型中具有完全的免疫力^[14-15]。

HIV 病毒的感染有时会导致各种神经系统症状,统称为神经艾滋病(Neuro AIDS)。艾滋病感染早期,Neuro AIDS 最明显的表现形式为 HIV 痴呆,在晚期表现为认知、运动和行为症状^[16]。建立 AIDS 和 Neuro AIDS 的非人类灵长类动物模型对于研究 HIV 感染中枢神经系统、神经病理学中发生的单核细胞和巨噬细胞蓄积至关重要。巨噬细胞的转移在神经系统发病中具有重要的作用^[17],通过单克隆抗体实验性耗竭 CD8 淋巴细胞后感染的 SIVmac251 恒河猴得到 CD8 淋巴细胞耗竭模型,能够快速引起艾滋病感染和持续的高病毒血症^[18],并加速巨噬细胞在中枢神经系统中的聚集^[19]。同样使用重组抗 CD4 抗体(CD4R1)在 SIVmac251 感染前消耗 RM CD4⁺T 细胞建立的恒河猴模型,显示病毒复制大量增加并发展为艾滋病,巨噬细胞占淋巴结和粘膜组织中所有 SIV vRNA⁺细胞的 80%,促炎性单核细胞发生大量扩增,小胶质细胞也导致感染并异常激活^[20]。通过分子克隆得到 SIVsm804E-CL757(CL757)衍生病毒进一步开发了 Neuro AIDS 模型,诱导神经系统疾病过程中没有快速进展,因此更能反映出 HIV 感染中 Neuro AIDS 的进程,为研究中枢神经系统疾病进展和研究中枢神经系统病毒库提供有效模型^[21]。

2 HBV 感染模型

乙型肝炎病毒(HBV)感染是全球慢性肝病的主要原因之一。病毒感染与细胞炎症、氧化应激和 DNA 损伤相关,可能导致肝损伤,例如慢性肝炎、纤维化、肝硬化,最后引起肝细胞癌^[22]。

黑猩猩是第一个被报道用于急性 HBV 感染的动物模型,并在 HBV 疫苗的研发上做出了巨大贡献^[23],但是黑猩猩由于伦理的问题使用受到限制。一些大型猿猴如长臂猿猴和狒狒也被证明具有易感性,但是不及黑猩猩更接近于人类,在新的抗 HBV 疗法研究中尤其是免疫治疗的发展受到了限制,而小型灵长类动物(新、旧世界猴)(图 1)模型因此得到发展。由于种属特异性因素,导致其他灵

长类动物难以感染,为了模拟 HBV,通过离体杆状病毒介导 HBV 基因组转移得到重组杆状病毒(Bac-HBV),在转导至原代恒河猴肝细胞第 9 天后,检测到乙肝表面抗原分泌,以及病毒 DNA、RNA 和共价闭合的环状 DNA,因此显示了杆状病毒具有介导穿越物种屏障的作用^[24],这种跨物种作用成功地建立了 HBV 新世界猴模型。HBV 通过 preS1 多肽与牛磺胆酸钠共转运多肽(NTCP,由 SLC10A1 编码)结合侵入肝细胞^[25-26],NTCP 是恒河猴肝细胞中乙型肝炎病毒感染的限制性宿主因子^[27]。通过病毒载体介导 NTCP 在恒河猴肝细胞中表达,能够使其易于感染 HBV,并能够在血清中检测 HBV 的 DNA 以及肝细胞中检测 HBV 的 DNA、RNA 和 HBV 核心抗原(HBcAg),成功建立了与 HBV 感染相关的生理学模型^[28]。基于人与松鼠猴之间 NTCP 的高度同源性,用嵌入 WMHBV(绒毛猴乙肝病毒)传染性基因组的相关腺病毒(AAV-WMHBV)感染松鼠猴,在肝中能够检测到共价闭合环状 DNA,在新生和成年的松鼠猴感染模型中达到病毒血症持续时间比其他 NHP 的长两倍多,持续维持 6 ~ 8 个月的病毒血症,这可能作为测试 HBV 治疗药物的合适模型,用于替代其他 HBV-NHP 动物模型^[29]。

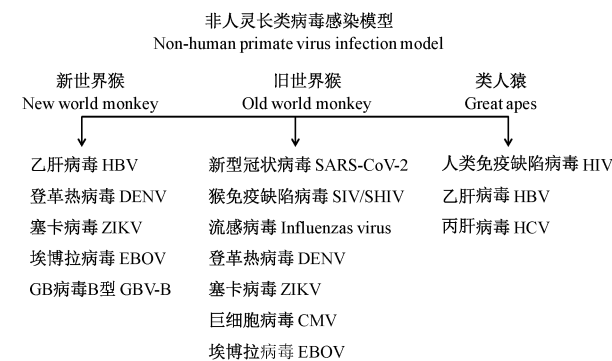


图 1 非人灵长类动物病毒感染模型

Figure 1 Non-human Primate virus infection model

3 流感病毒感染模型

流感病毒分为甲型、乙型和丙型三类。乙型和丙型流感病毒能够分别导致季节性流感和小儿高热伴上呼吸道感染^[30]。甲型流感病毒能引起人类大流行和季节性流感,其表面包含血凝素(HA)和神经氨酸酶(NA)两种糖蛋白,并有多重亚型,HA 在病毒结合和内化中执行关键功能,而 NA 则促进病毒从细胞表面释放。人类甲型流感病毒亚型主要包括 1918 年和 2009 年的 H1N1 病毒,1957 年的

H2N2 病毒和 1968 年的 H3N2 病毒, 甲型流感病毒还包括新兴高致病流感病毒 H5N1 (1997 年香港爆发) 和 H7N9 (2013 年在我国报道人类感染) 等。由于大流行流感病毒人畜共患死亡率较高, 且比季节性流感病毒的感染性还要强, 目前已成为重要的公共卫生问题。

3.1 H1N1 流感病毒模型

研究表明, 用 1918 年流感病毒感染食蟹猴能够引起高致病性呼吸道感染, 最终导致急性呼吸窘迫和死亡^[31]。此外, 受感染的动物出现了以抗病毒应答失调为特征的免疫应答, 但是不足以提供机体保护, 这表明非典型的宿主固有免疫反应可能导致致死性。流感病毒调节宿主免疫反应的能力可能是高致病流感病毒的一个共同特征。Skinner 等^[32]用 2009 年大流行 H1N1 (pH1N1) 流感病毒感染初生恒河猴, 在感染的第 1 天至第 6 天未观察到临床症状, 而是出现亚临床双相热。用带有血凝素 (HA) 或核蛋白 (NP) 的候选疫苗进行免疫, 在亚临床恒河猴模型中, 发现血液干扰素的活性是一个显著的标志物, 并可作为评价流感病毒疫苗效力的指标。Safronetz 等^[33]在建立食蟹猴模型的基础上, 用大流行初期 (A/Mexico/4108/2009 和 A/Mexico/InDRE4487/2009) 两种遗传相似但临床上不同的 SOIV (swine-origin influenza virus (SOIV) (H1N1)) 分离株感染食蟹猴, 在临床疾病、病毒学、宿主反应以及组织病理学参数与季节性 H1N1 病毒进行比较, 显示出了更严重的感染, 并观察到两种 SOIV 分离株在病毒复制、宿主转录和细胞因子反应以及疾病进展方面的异质性。用猪源性大流行 H1N1 菌株 A/Mexico/InDRE4487/2009 对食蟹猴、恒河猴和普通绒猴进行比较研究发现, 三种猴都容易受到感染, 并发展为上下呼吸道感染^[34]。食蟹猴和恒河猴疾病易感性进行比较, 食蟹猴在上呼吸道和肺中的病毒复制水平显著更高, 涉及病毒生产的峰值水平和持续时间, 以及体温都较高, 而在恒河猴中更容易观察到呼吸窘迫等临床症状。引起病毒的差异复制的原因可能是食蟹猴的气管和支气管中唾液酸- α -2,6-Gal 糖 (人类甲型流感病毒的受体) 的表达水平显著比恒河猴高 (50 ~ 73 倍), 结果显示食蟹猴具有更均匀、更高水平的病毒复制以及体温的升高, 这可作为大流行 H1N1 流感病毒研究的模型^[34-35]。在进行流行性病毒传播研究中, 用 2009 年大流行性病毒 A/California/07/2009 (H1N1pdm)

证明了人类流感病毒分离株可以有效地感染并在新世界猴种普通绒猴 (*Callithrix jacchus*) 之间传播, 被感染的动物经血清转化, 表现出类似人的症状, 这可能是研究流感病毒传播的可行模型^[36], 并且普通绒猴可作为季节性或高致病性禽流感病毒感染的动物模型^[37]。

3.2 H5N1 流感病毒模型

1997 年高致病性禽流感病毒 (HPAIV) H5N1 在我国香港爆发, 在禽类鸡中的感染死亡率高达 75%, 并在人类中引发严重疾病, 死亡率高于 50%^[38]。较高的死亡率迫使需要 NHP 感染模型来研究人类 HPAIV 的发病机理以及开发针对 HPAIV 的新疫苗或药物。Kuiken 等^[39]用甲型流感病毒 A/Hong Kong/156/97 (H5N1) 感染四只食蟹猴, 感染病变中坏死性支气管间质性肺炎在病理上与人类原发性流感病毒性肺炎相似, 表明食蟹猴是用于研究人类 H5N1 病毒感染的发病机制的合适动物模型。Muramoto 等^[40]为了了解 H5N1 病毒诱发人类严重疾病的机制, 用 6 种 H5N1 病毒感染食蟹猴, 比较了它们的致病性和对病毒感染的整体宿主反应, 确定了由这些 H5N1 病毒引起的病毒复制能力和疾病严重程度差异, 为哺乳动物中 H5N1 病毒的发病机理提供了新的认识。Chen 等^[41]用流感病毒 A/Tiger/Harbin/01/2002 (H5N1) 感染恒河猴, 产生了急性间质性肺炎和弥漫性肺泡损伤, 表明肺是 H5N1 病毒感染的主要目标器官, 证实恒河猴适合作为 H5N1 病毒研究的新灵长类动物模型尤其是 H5N1 病毒传播的研究。

建立更接近自然传播途径的动物感染模型对研究病毒传播以及发病机制具有重要意义。在研究一种冷适应的减毒疫苗 (AH/Aca) 时, 鼻内免疫两次的恒河猴能够诱导产生强大的中和抗体反应以及 HA 特异性 CD4⁺ T 细胞免疫反应, 引发针对高致病性 H5N1 病毒感染的保护性免疫^[42]。在前期 NHP 感染模型中, 是在气管内将含有流感病毒的悬浮液倒入肺中^[43], 而这在自然传播中并不会发生。Fujiiyuki 等^[44]使用日本分离株 (A/whooper swan/Hokkaido/1/2008, H5N1 clade 2.3.2.1) 对恒河猴和食蟹猴以小液滴接触方式在气管内进行接种, 两种猴均观察到上下呼吸道感染及病毒脱落, 较高剂量下接种恒河猴引起更严重的流感症状。通过气溶胶途径 (吸入雾化) 对高致病性 H5N1 流感病毒进行了 NHP 的实验性感染, 食蟹猴吸入雾化的

H5N1 流感病毒会导致暴发性肺炎,迅速发展为急性呼吸窘迫综合征,在整个肺叶引起更广泛的感染^[45-46]。这种新方式感染的非人类灵长类动物模型将推进疫苗的研发和新的治疗方法,以预防和治疗由高致病性禽流感病毒引起的人类疾病。

3.3 N7N9 流感病毒模型

低致病性 N7N9 流感病毒(LPAIV)于 2013 年在中国报道,2017 年突变为高致病性菌株,导致人类严重感染并在中国八省家禽中爆发疫情^[47]。用 A/Anhui/1/2013(H7N9)病毒株感染食蟹猴,可发展为短暂、轻度至重度疾病,肺的组织病理学变化与人类相似,虽然程度较轻,但有弥漫性肺泡损伤、多形核细胞浸润、透明膜形成、肺细胞增生和纤维增生变化,在呼吸组织上的附着模式与在人的附着模式更为相似^[48-49]。与其他流感病毒相比,H7N9 菌株 NA 中容易出现 R289 K、E119 V、A246T 或 H274Y 突变,降低了神经氨酸酶抑制剂(NAI)的敏感性。食蟹猴模型可以预测体内出现抗 NAI 钠抑制剂的 H7N9 病毒的几率,这对新的 NAI 的开发具有重要作用^[50-51]。

4 登革热病毒(DENV)感染模型

登革热是伊蚊在人与人之间传播的全身性病毒感染性疾病,严重威胁着人的生命。目前已有 128 个国家发现登革热病毒,影响全球一半以上人口,随着气候变化和城市化,登革热的传播范围也将进一步扩大^[52]。由于可能缺乏反映登革热临床症状的动物模型,目前的预防和治疗策略还远远不足。有研究开发了小鼠登革热模型,用于研究 DENV 发病机理和免疫应答^[53]。但是小鼠模型在病理和病毒学分析方面具有一定局限性^[54]。用新世界猴普通狨猴接种 DENV,能够表现出高水平的病毒血症,并在淋巴结、脾和胸腺在内的淋巴器官及非淋巴器官检测到 DENV 基因组,可作为研究继发性和原发性 DENV 感染的动物模型,用于疫苗开发^[55-56]。但是新世界猴在免疫反应方面与旧世界猴有所不同,主要包括在组织相容性复杂等位基因和抗体交叉反应性的差异^[57]。用旧世界恒河猴接种 DENV,出现较低水平的病毒滴度和较轻的症状^[58],由于缺乏与 DENV 相关的临床体征,登革热恒河猴模型可能不够完善,但通过改良的登革热恒河猴模型可能在早期评估登革热疫苗的效力和安全性可能存在作用^[59]。通过接种 DENV-409-48 株

的旧世界猴冠毛猕猴(*Macaca radiata*),实验检测到 DENV 非结构蛋白 1 抗原,并观察到高病毒血症,表明用 DV-409-48 感染的冠毛猕猴可以用作研究 DENV 的可靠灵长类动物模型^[60]。尽管非人类灵长类动物模型存在固有局限性,但通过一些模型改进,以及新的模型发现,这些模型结果仍然对研究致病机理,测试 DENV 药物和评估登革热疫苗效力方面有重要价值。

5 SARS-CoV-2 感染模型

由新型 β 冠状病毒(SARS-CoV-2)引起的新型冠状病毒肺炎(COVID-19)^[61]已扩散全球,病例数迅速增加,截止 2020 年 9 月 6 日,累计感染人数达 2676 万,死亡人数达 87 万,全球疫情异常严峻。动物模型对于研究病毒感染发病机制以及特异的治疗药物或疫苗不可或缺,因此开发针对 SARS-CoV-2 的动物模型用于研究病毒发病机制,评估和筛选针对新冠肺炎的候选药物或疫苗迫在眉睫。秦川团队利用 ACE2 转基因小鼠率先制备了新冠病毒模型,研究病毒在小鼠模型中的组织病理学,阐明了 hACE2 小鼠中 SARS-CoV-2 的致病性^[62]。并建立了年轻和老年恒河猴感染模型,揭示了 SARS-CoV-2 引起的老年猴间质性肺炎比幼猴严重^[63],提供了深入了解其致病机制的信息,并促进了针对预防 SARS-CoV-2 的疫苗和 COVID-19 治疗药物的开发。通过对恒河猴气管接种,组织病理学观察表明,SARS-CoV-2 感染可引起间质性肺炎,其特征在于充血和水肿,以及肺泡中单核细胞和淋巴细胞的浸润。在呼吸道组织(包括气管、支气管和肺)中鉴定出 SARS-CoV-2 RNA。并且还分别从口咽拭子、支气管和肺中分离出病毒^[64-66]。并有研究小组建立了年轻和老年食蟹猴 SARS-CoV-2 感染模型,与 MERS-CoV 和 SARS-CoV 发病机制进行了比较,显示出不同的临床特征,为疾病的预防和治疗提供了依据^[67]。研究显示原发性 SARS-CoV-2 感染可以激发免疫保护机制,并能够避免再次感染^[68-69]。非人类灵长类动物在此次 SARS-CoV-2 的研究中提供了一个有价值的动物模型平台,为疾病的预防提供了重要依据,并为该疾病机制的研究,药物的研发疫苗的评价提供有用模型,大大加快了人们攻克新冠肺炎的速度。

6 其他病毒感染模型

除以上 NHP 病毒感染模型外,NHP 还用于寨

卡病毒(ZIKV)^[70]和巨细胞病毒(CMV)^[71]等病毒感染模型(图1)。NHP在阐明ZIKV发病机理和评价候选疫苗方面已经发挥了巨大作用^[72],并在新旧世界猴中恒河猴^[73]、食蟹猴^[74]、普通狨猴^[75]、松鼠猴和泉猴^[76]等中制造出早期怀孕期间感染模型,证实了胎儿神经病理学,以及小儿畸形和其他先天性寨卡综合征^[77]。CMV非人灵长类动物模型已被用于研究CMV发病机制、原发感染的免疫应答以及后遗症,这种非人类灵长类动物模型为研发HCMV疫苗带来进一步的可能^[78-80]。NHP还用于EBOV、GBV-B等病毒感染研究,并必将为今后可能出现的新型病毒继续做出重要贡献。

7 小结与展望

NHP对人类致病性病毒具有极度易感性,能够有效模拟人类病毒感染性疾病,并随着NHP实验动物模型制备的不断完善,对疾病的发病机制研究,以及药物的开发和疫苗评价具有不可估量的作用。但是非人灵长类动物作为国家保护动物,资源比较稀缺,所以进一步发展并扩大NHP种质资源具有重要意义,尤其是SPF级(无特定病原体)非人灵长类实验动物。NHP不仅在病毒感染性疾病中的具有重要应用,还在脑科学、生殖生育、器官移植、干细胞研究等领域也具有重要应用,相信在未来的医学发展与进步上,NHP将会发挥出更加不可估量的价值。

参 考 文 献(References)

- [1] Capitanio JP, Emborg ME. Contributions of non-human primates to neuroscience research [J]. *Lancet*, 2008, 371(9618): 1126-1135.
- [2] Yan G, Zhang G, Fang X, et al. Genome sequencing and comparison of two nonhuman primate animal models, the cynomolgus and Chinese rhesus macaques [J]. *Nat Biotechnol*, 2011, 29(11): 1019-1023.
- [3] Coers J, Starnbach MN, Howard JC. Modeling infectious disease in mice: co-adaptation and the role of host-specific IFN- γ responses [J]. *PLoS Pathog*, 2009, 5(5): e1000333.
- [4] McGonigle P, Ruggeri B. Animal models of human disease: challenges in enabling translation [J]. *Bio Pharmacol*, 2014, 87(1): 162-171.
- [5] Friedman H, Ator N, Haigwood N, et al. The critical role of nonhuman primates in medical research [J]. *Pathog Immun*, 2017, 2(3): 352-365.
- [6] Manickam C, Shah SV, Lucar O, et al. Cytokine-mediated tissue injury in non-human primate models of viral infections [J]. *Front Immunol*, 2018, 9: 2862.
- [7] Peeters M, Jung M, Ayoub A. The origin and molecular epidemiology of HIV [J]. *Expert Rev Anti Infect Ther*, 2013, 11(9): 885-896.
- [8] Garcia T T, Huot N, Ploquin MJ, et al. Non-human primates in HIV research: achievements, limits and alternatives [J]. *Infect Genet Evol*, 2016, 46: 324-332.
- [9] Policicchio BB, Pandrea I, Apetrei C. Animal models for HIV cure research [J]. *Front Immunol*, 2016, 7: 12.
- [10] Burton DR, Hangartner L. Broadly neutralizing antibodies to HIV and their role in vaccine design [J]. *Annu Rev Immunol*, 2016, 34: 635-659.
- [11] Burton DR, Poignard P, Stanfield RL, et al. Broadly neutralizing antibodies present new prospects to counter highly antigenically diverse viruses [J]. *Science*, 2012, 337(6091): 183-186.
- [12] Barouch DH, Whitney JB, Moldt B, et al. Therapeutic efficacy of potent neutralizing HIV-1-specific monoclonal antibodies in SHIV-infected rhesus monkeys [J]. *Nature*, 2013, 503(7475): 224-228.
- [13] Gao N, Wang W, Wang C, et al. Development of broad neutralization activity in simian/human immunodeficiency virus-infected rhesus macaques after long-term infection [J]. *AIDS*, 2018, 32(5): 555-563.
- [14] Xu L, Pegu A, Rao E, et al. Trispecific broadly neutralizing HIV antibodies mediate potent SHIV protection in macaques [J]. *Science*, 2017, 358(6359): 85-90.
- [15] Crunkhorn S. HIV: Trispecific antibodies block infection [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2017, 16(11): 754.
- [16] Albarillo F, O'Keefe P. Opportunistic Neurologic infections in patients with acquired immunodeficiency syndrome (AIDS) [J]. *Curr Neurol Neurosci Rep*, 2016, 16(1): 10.
- [17] Burdo TH, Lackner A, Williams KC. Monocyte/macrophages and their role in HIV neuropathogenesis [J]. *Immunol Rev*, 2013, 254(1): 102-113.
- [18] Williams K, Westmoreland S, Greco J, et al. Magnetic resonance spectroscopy reveals that activated monocytes contribute to neuronal injury in SIV neuroAIDS [J]. *J Clin Invest*, 2005, 115(9): 2534-2545.
- [19] Nowlin BT, Burdo TH, Midkiff CC, et al. SIV encephalitis lesions are composed of CD163(+) macrophages present in the central nervous system during early SIV infection and SIV-positive macrophages recruited terminally with AIDS [J]. *Am J Pathol*, 2015, 185(6): 1649-1665.
- [20] Micci L, Alvarez X, Irielle RI, et al. CD4 depletion in SIV-infected macaques results in macrophage and microglia infection with rapid turnover of infected cells [J]. *PLoS Pathog*, 2014, 10(10): e1004467.
- [21] Matsuda K, Riddick NE, Lee CA, et al. A SIV molecular clone that targets the CNS and induces neuroAIDS in rhesus macaques [J]. *PLoS Pathog*, 2017, 13(8): e1006538.
- [22] Sukowati CH. Significance of hepatitis virus infection in the oncogenic initiation of hepatocellular carcinoma [J]. *World J Gastroenterol*, 2016, 22(4): 1497-1512.

- [23] Lanford RE, Walker CM, Lemon SM, et al. The chimpanzee model of viral hepatitis: advances in understanding the immune response and treatment of viral hepatitis [J]. *ILAR J*, 2017, 58(2): 172–189.
- [24] Lucifora J, Vincent IE, Berthillon P, et al. Hepatitis B virus replication in primary macaque hepatocytes: crossing the species barrier toward a new small primate model [J]. *Hepatology*, 2010, 51(6): 1954–1960.
- [25] Urban S, Bartenschlager R, Kubitz R, et al. Strategies to inhibit entry of HBV and HDV into hepatocytes [J]. *Gastroenterology*, 2014, 147(1): 48–64.
- [26] Müller SF, König A, Döring B, et al. Characterisation of the hepatitis B virus cross-species transmission pattern via Na⁺/taurocholate co-transporting polypeptides from 11 New World and Old World primate species [J]. *PLoS One*, 2018, 13(6): e0199200.
- [27] Lempp FA, Wiedtke E, Qu B, et al. Sodium taurocholate cotransporting polypeptide is the limiting host factor of hepatitis B virus infection in macaque and pig hepatocytes [J]. *Hepatology*, 2017, 66(3): 703–716.
- [28] Burwitz BJ, Wettengel JM, Mück-Häusl MA, et al. Hepatocytic expression of human sodium-taurocholate cotransporting polypeptide enables hepatitis B virus infection of macaques [J]. *Nat Commun*, 2017, 8(1): 2146.
- [29] Chen CY, Wine BY, Chavez D, et al. Woolly monkey – HBV infection in squirrel monkeys as a surrogate nonhuman primate model of HBV infection [J]. *Hepatol Commun*, 2020, 4(3): 371–386.
- [30] Matsuzaki Y, Abiko C, Mizuta K, et al. A nationwide epidemic of influenza C virus infection in Japan in 2004 [J]. *J Clin Microbiol*, 2007, 45(3): 783–788.
- [31] Kobasa D, Jones SM, Shinya K, et al. Aberrant innate immune response in lethal infection of macaques with the 1918 influenza virus [J]. *Nature*, 2007, 445(7125): 319–323.
- [32] Skinner JA, Zurawski SM, Sugimoto C, et al. Immunologic characterization of a rhesus macaque H1N1 challenge model for candidate influenza virus vaccine assessment [J]. *Clin Vaccine Immunol*, 2014, 21(12): 1668–1680.
- [33] Safronetz D, Rockx B, Feldmann F, et al. Pandemic swine-origin H1N1 influenza A virus isolates show heterogeneous virulence in macaques [J]. *J virol*, 2011, 85(3): 1214–1223.
- [34] Mooij P, Koopman G, Mortier D, et al. Pandemic swine-origin H1N1 influenza virus replicates to higher levels and induces more fever and acute inflammatory cytokines in cynomolgus versus rhesus monkeys and can replicate in common marmosets [J]. *PLoS One*, 2015, 10(5): e0126132.
- [35] Safronetz D, Rockx B, Feldmann F, et al. Pandemic swine-origin H1N1 influenza A virus isolates show heterogeneous virulence in macaques [J]. *J Virol*, 2011, 85(3): 1214–1223.
- [36] Moncla LH, Ross TM, Dinis JM, et al. A novel nonhuman primate model for influenza transmission [J]. *PLoS One*, 2013, 8(11): e78750.
- [37] Kiyoko IH, Noriko N, Maki K, et al. The marmoset as an animal model of influenza: infection with A (H1N1) pdm09 and highly pathogenic A (H5N1) viruses via the conventional or tracheal spray route [J]. *Front Microbiol*, 2018, 9: 844.
- [38] Neumann G, Chen H, Gao GF, et al. H5N1 influenza viruses: outbreaks and biological properties [J]. *Cell Res*, 2009, 20(1): 51–61.
- [39] Kuiken T, Rimmelzwaan GF, Van Amerongen G, et al. Pathology of human influenza A (H5N1) virus infection in cynomolgus macaques (*Macaca fascicularis*) [J]. *Vet Pathol*, 2003, 40(3): 304–310.
- [40] Muramoto Y, Shoemaker JE, Le MQ, et al. Disease severity is associated with differential gene expression at the early and late phases of infection in non-human primates infected with different H5N1 highly pathogenic avian influenza viruses [J]. *J Virol*, 2014, 88(16): 8981–8997.
- [41] Chen Y, Deng W, Jia C, et al. Pathological lesions and viral localization of influenza A (H5N1) virus in experimentally infected Chinese rhesus macaques: implications for pathogenesis and viral transmission [J]. *Arch Virol*, 2009, 154(2): 227–233.
- [42] Fan S, Gao Y, Shinya K, et al. Immunogenicity and protective efficacy of a live attenuated H5N1 vaccine in nonhuman primates [J]. *PLoS Pathog*, 2009, 5(5): e1000409.
- [43] Muramoto Y, Shoemaker JE, Le MQ, et al. Disease severity is associated with differential gene expression at the early and late phases of infection in nonhuman primates infected with different H5N1 highly pathogenic avian influenza viruses [J]. *J Virol*, 2014, 88(16): 8981–8997.
- [44] Fujiyuki T, Yoneda M, Yasui F, et al. Experimental infection of macaques with a wild water bird-derived highly pathogenic avian influenza virus (H5N1) [J]. *PLoS One*, 2013, 8(12): e83551.
- [45] Wonderlich ER, Swan ZD, Bissel SJ, et al. Widespread virus replication in alveoli drives acute respiratory distress syndrome in aerosolized H5N1 influenza infection of macaques [J]. *J Immunol*, 2017, 198(4): 1616–1626.
- [46] Watanabe T, Iwatsuki HK, Kiso M, et al. Experimental infection of Cynomolgus Macaques with highly pathogenic H5N1 influenza virus through the aerosol route [J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 4801.
- [47] Qi W, Jia W, Liu D, et al. Emergence and adaptation of a novel highly pathogenic H7N9 influenza virus in birds and humans from a 2013 human-infecting low-pathogenic ancestor [J]. *J Virol*, 2018, 92(2): e00921.
- [48] de Wit E, Rasmussen AL, Feldmann F, et al. Influenza virus A/Anhui/1/2013 (H7N9) replicates efficiently in the upper and lower respiratory tracts of cynomolgus macaques [J]. *Mbio*, 2014, 5(4): e01331–01314.
- [49] Siegers JY, Short KR, Leijten LM, et al. Novel avian-origin influenza A (H7N9) virus attachment to the respiratory tract of five animal models [J]. *J Virol*, 2014, 88(8): 4595–4599.

- [50] Itoh Y, Shichinohe S, Nakayama M, et al. Emergence of H7N9 influenza A virus resistant to neuraminidase inhibitors in nonhuman primates [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2015, 59(8): 4962–4973.
- [51] Tang J, Zhang J, Zhou J, et al. Highly pathogenic avian influenza H7N9 viruses with reduced susceptibility to neuraminidase inhibitors showed comparable replication capacity to their sensitive counterparts [J]. *Virol J*, 2019, 16(1): 87.
- [52] Messina JP, Brady OJ, Golding N, et al. The current and future global distribution and population at risk of dengue [J]. *Nat Microbiol*, 2019, 4(9): 1508–1515.
- [53] Coronel RC, Gutiérrez BH, Medina MS, et al. Humanized mice in dengue research: a comparison with other mouse models [J]. *Vaccines (Basel)*, 2020, 8(1): 39.
- [54] Zompi S, Harris E. Animal models of dengue virus infection [J]. *Viruses*, 2012, 4(1): 62–82.
- [55] Moi ML, Ami Y, Muhammad Azami NA, et al. Marmosets (*Callithrix jacchus*) as a non-human primate model for evaluation of candidate dengue vaccines: induction and maintenance of specific protective immunity against challenges with clinical isolates [J]. *J Gen Virol*, 2017, 98(12): 2955–2967.
- [56] Azami NAM, Moi ML, Ami Y, et al. Genotype-specific and cross-reactive neutralizing antibodies induced by dengue virus infection: detection of antibodies with different levels of neutralizing activities against homologous and heterologous genotypes of dengue virus type 2 in common marmosets (*Callithrix jacchus*) [J]. *Virol J*, 2018, 15(1): 51.
- [57] Asada Y, Kawamoto Y, Shotake T, et al. Molecular evolution of IgG subclass among nonhuman primates: implication of differences in antigenic determinants among Apes [J]. *Primates*, 2002, 43(4): 343–349.
- [58] Clark KB, Onlamoon N, Hsiao HM, et al. Can non-human primates serve as models for investigating dengue disease pathogenesis? [J]. *Front Microbiol*, 2013, 4: 305.
- [59] Borges MB, Marchevsky RS, Carvalho PR, et al. Detection of post-vaccination enhanced dengue virus infection in macaques: An improved model for early assessment of dengue vaccines [J]. *PLoS Pathog*, 2019, 15(4): e1007721.
- [60] Kato F, Ishida Y, Kawakami A, et al. Evaluation of *Macaca radiata* as a non-human primate model of Dengue virus infection [J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 3421.
- [61] Huang C, Wang Y, Li X, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China [J]. *Lancet*, 2020, 395(10223): 497–506.
- [62] Bao L, Deng W, Huang B, et al. The pathogenicity of SARS-CoV-2 in hACE2 transgenic mice [J]. *Nature*, 2020, 583(7818): 830–833.
- [63] Yu P, Qi F, Xu Y, et al. Age-related rhesus macaque models of COVID-19 [J]. *Animal Model Exp Med*, 2020, 3(1): 93–97.
- [64] Shan C, Yao YF, Yang XL, et al. Infection with novel coronavirus (SARS-CoV-2) causes pneumonia in Rhesus macaques [J]. *Cell Res*, 2020, 30(8): 670–677.
- [65] Munster VJ, Feldmann F, Williamson BN, et al. Respiratory disease in rhesus macaques inoculated with SARS-CoV-2 [J]. *Nature*, 2020, 585(7824): 268–272.
- [66] Gao Q, Bao L, Mao H, et al. Rapid development of an inactivated vaccine candidate for SARS-CoV-2 [J]. *Science*, 2020, eabc1932.
- [67] Rockx B, Kuiken T, Herfst S, et al. Comparative pathogenesis of COVID-19, MERS, and SARS in a nonhuman primate model [J]. *Science*, 2020, 368(6494): 1012–1015.
- [68] Bao L, Deng W, Gao H, et al. Reinfection could not occur in SARS-CoV-2 infected rhesus macaques [J]. *BioRxiv*, 2020, 3: 13.
- [69] Chandrashekar A, Liu J, Martinot AJ, et al. SARS-CoV-2 infection protects against rechallenge in rhesus macaques [J]. *Science*, 2020, 369(6505): 812–817.
- [70] Chang C, Ortiz K, Ansari A, et al. The Zika outbreak of the 21st century [J]. *J Autoimmun*, 2016, 68: 1–13.
- [71] Itell HL, Kaur A, Deere JD, et al. Rhesus monkeys for a nonhuman primate model of cytomegalovirus infections [J]. *Curr Opin Virol*, 2017, 25: 126–133.
- [72] Peter A, Larocca RA, Wanwisa D, et al. Therapeutic and protective efficacy of a dengue antibody against Zika infection in rhesus monkeys [J]. *Nat Med*, 2018, 24(6): 721–723.
- [73] Martinot AJ, Abbink P, Afacan O, et al. Fetal neuropathology in Zika virus-infected pregnant female rhesus monkeys [J]. *Cell*, 2018, 173(5): 1111–1122.
- [74] Dudley DM, Van Rompay KK, Coffey LL, et al. Miscarriage and stillbirth following maternal Zika virus infection in nonhuman primates [J]. *Nat Med*, 2018, 24(8): 1104–1107.
- [75] Seferovic M, Sánchez-San MC, Tardif SD, et al. Experimental Zika virus infection in the pregnant common marmoset induces spontaneous fetal loss and neurodevelopmental abnormalities [J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 16131.
- [76] Vanchiere JA, Ruiz JC, Brady AG, et al. Experimental Zika virus infection of neotropical primates [J]. *Am J Trop Med Hyg*, 2018, 98(1): 173–177.
- [77] Alves DSE, Fink K. Animal models for dengue and Zika vaccine development [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2018, 1062: 215–239.
- [78] Yue Y, Barry PA. Rhesus cytomegalovirus a nonhuman primate model for the study of human cytomegalovirus [J]. *Adv Virus Res*, 2008, 72: 207–226.
- [79] Fan Q, Nelson CS, Bialas KM, et al. Plasmablast response to primary rhesus cytomegalovirus (CMV) infection in a monkey model of congenital CMV transmission [J]. *Clin Vaccine Immunol*, 2017, 24(5): e00510.
- [80] Kolb P, Sijmons S, McArdle MR, et al. Identification and functional characterization of a novel Fc gamma-Binding glycoprotein in rhesus cytomegalovirus [J]. *J Virol*, 2019, 93(4): e02077.