

包容. 猴痘病毒的感染与猴痘的动物模型 [J]. 中国比较医学杂志, 2023, 33(11): 133-141.

Bao R. Monkeypox virus infection and the animal model of monkeypox [J]. Chin J Comp Med, 2023, 33(11): 133-141.

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2023.11.018

猴痘病毒的感染与猴痘的动物模型

包 容

(武汉大学动物实验中心/ABSL-3 实验室, 武汉 430071)

【摘要】 猴痘是猴痘病毒(monkeypox virus, MPXV)感染引起的传染性疾病。猴痘病毒的宿主依然没有完全明确,啮齿类与非人灵长类动物被认为是潜在的宿主。猴痘正在全世界范围内逐渐扩散,但我国一直以来并未开展猴痘的动物模型的研究。作为一种严重危害人类健康的病原体,猴痘病毒有多种感染类型;其在人群中的传播呈现新的特点。因此本文论述了猴痘病毒发现的经过与早期疫情、不同的感染类型和共感染。此外,本文还介绍了啮齿类和非人灵长类动物的实验性感染与猴痘动物模型。

【关键词】 猴痘;猴痘病毒;痘病毒;动物模型;模式动物

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856 (2023) 11-0133-09

Monkeypox virus infection and the animal model of monkeypox

BAO Rong

(the Center for Animal Experiment/Animal Biosafety Level-3 Laboratory, Wuhan University, Wuhan 430071, China)

【Abstract】 Monkeypox is an infectious disease caused by monkeypox virus (MPXV) infection. The host of MPXV remains unclear, and rodents and non-human primates are considered to be potential hosts. Monkeypox is rapidly spreading worldwide. However, animal models of monkeypox have not been established in China. MPXV is a pathogen that seriously threatens human health. Its transmission among the population has presented new characteristics. Therefore, this article describes the discovery of MPXV and the early epidemic, different types of infection, and coinfection. Additionally, experimental infection and animal models of monkeypox in rodents and non-human primates are expounded.

【Keywords】 monkeypox; MPXV; mpox; animal model; model animal

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

猴痘病毒(monkeypox virus, MPXV)属正痘病毒(*Orthopoxvirus*, OPXV)科成员。在该病毒家族中,有十多个成员,但只有天花病毒、牛痘病毒、猴痘病毒等四种可感染人类。在天花消灭之后,一种类似天花的疾病继续在刚果(金)农村流行^[1]。1970年当地儿童出现天花样症状,猴痘病毒随即从人痘疹标本中分离,该病毒对人致病的事实也得到确认^[1]。现在这种病毒正逐渐扩散到非洲以外的大洲,被感染的人群正逐渐扩大。非人灵长类(non-human primates, NHPs)被认为是偶然的宿主;啮齿类的非洲松鼠、非洲睡鼠是更可能的宿主,但并未

完全确定。以前的感染一般由密切接触染病的野生动物或者宠物而引发;最近的猴痘病毒的传播与感染对象呈现新的特点,同性恋和双性恋成了猴痘病毒感染的主要群体,其致病性也正发生变化。MPXV的感染因为动物种类、感染途径、感染剂量、毒株等多种因素不同而有较大差异。我国面临境外猴痘病毒传入的风险,因此有必要全面了解猴痘病毒的感染特点,并建立相应的动物模型。本文论述了猴痘病毒的发现经过、流行与感染类型和多种动物的感染模型,并总结了多种啮齿类、非人灵长类的感染以及多种类型的感染,如自然感染、隐性

【基金项目】“十四五”国家重点研发计划重点专项(2021YFF0702002)。

【作者简介】包容(1979—),男,博士,研究方向:病原微生物感染与动物模型。E-mail:baorongxiao@whu.edu.cn

感染、显性感染、共感染等;还介绍了各种实验性感染与动物模型特点,包括动物对病毒的敏感性、病毒的组织嗜性,不同途径的感染、不同毒株的感染等;希望对构建猴痘动物模型提供更多的认识。

1 猴痘病毒发现的经过与早期疫情

1958 年,来自马来(西)亚的食蟹猴运输到丹麦哥本哈根国家血清研究所后暴发两次疫情。部分猴出现痘疹,疑在运输途中被感染。曾发现缺损病毒的干扰现象的 Von Magnus 分离出病原体,并鉴定为猴痘病毒^[2]。1964 年 12 月,荷兰鹿特丹动物园 23 只动物被感染,11 只动物死亡。疫情引发外界关注,1967 年 WHO 调查欧美 26 个灵长类机构,发现 9 个(分别来自丹麦、荷兰和美国)都曾暴发过猴痘或类似病情,其中 5 次被病毒分离证实。次年巴黎也暴发猴痘疫情,2 只来自塞拉利昂的黑猩猩出现广泛性皮疹^[2]。在这些疫情中,被感染的主要是东南亚的食蟹猴(食蟹猴)和亚洲的普通猕猴(恒河猴),但是这些猴的老家并未发生类似疫情。

这被后来的病毒基因测序与序列分析所证实,以往多个 MPXV 流行株都是西非来源,包括 1958 年的丹麦哥本哈根株、1962 年的 Walter-Reed 陆军研究所株、1964 年的荷兰鹿特丹株、1968 年巴黎株以及 2003 年的美国株等^[3]。不确定疫情是否全部与动物有关,可以肯定的是欧美国家众多动物园与实验机构的黑猩猩、多种非洲猴、狒狒均来源于非洲国家。这也说明,说明猴痘与天花曾经同时在非洲和欧洲流行;所谓的小天花、类天花也可能是猴痘。另外,在 MPXV 分离鉴定之前,野生猴群中也发生过类似天花的疫情^[4]。

2 非人灵长类与啮齿类动物的自然感染

2.1 非人灵长类的自然感染

在丹麦猴痘疫情之后,亚洲猴首先被怀疑是可能的天然宿主。1969~1970 年,1200 份亚洲猴血清检测发现抗痘病毒抗体均为阴性,随后更多的来自非洲稀树草原的猴血清标本也未检测到阳性^[5]。从 1969 年开始,多种西非的赤猴、狒狒的血清标本抗牛痘血凝抑制试验(HI)检测到阳性^[6],1973~1974 年,对 206 只西非 NHP 的血清调查发现 8% 的样本 HI 阳性,21% 样本中和抗体阳性,包括以前被归为长尾猴属的非洲绿猴(*C. aethiops*)、西非红疣猴和多种长尾猴。此外,还在 4 份 NHPs 血清标本中

发现 3 份特异性抗体阳性^[7]。随后在 13 只野生猴中发现 4 只抗 MPXV 特异性抗体阳性^[8]。1979 年,在刚果进行的大规模的血清抗体检测显示,在 43 种动物包括啮齿类、非人灵长类等动物中有 2%~70% 的抗 OPXV 抗体阳性^[5]。1986 年刚果(金)北部的一项调查,发现 39 只从原始森林捕获的 NHPs 中,3 只长尾猴特异性抗体阳性^[9]。1988 年大规模的调查发现,在刚果(金)的两个地区的 NHPs(主要是红尾长尾猴)中,7.8% 的标本特异性抗体阳性^[10]。这些针对 NHPs 的大规模的调查是 50 年前 WHO 为消灭天花而组织的国际合作的一部分,NHPs 的感染后来也有零星的报道。

2012 年科特迪瓦 Tai 国家公园一只死亡的野生白枕白眉猴(sooty mangabey, SM)幼体被发现,有典型皮疹。检测发现 MPXV 阳性,皮肤、咽拭子、胸腺病毒载量非常高^[11]。2017 年该公园 3 个相邻黑猩猩群体出现猴痘疫情,发病的主要是幼龄个体,猩猩有呼吸道症状;分离出的 3 个毒株与死亡的 SM 毒株的有非常近的遗传距离^[12]。2014 年喀麦隆中部 NHPs 收容所的黑猩猩暴发猴痘疫情。72 只中至少 6 只检测出 MPXV DNA 阳性。2016 年黑猩猩再次发生疫情,同样未找到传染源^[13]。

总之,MPXV 感染的 NHPs 种类很多,包括多种猩猩^[14]、新大陆猴;也包括旧大陆猴中常见的亚洲猕猴和非洲猴^[1,15]。在最近的暴发中,宿主或主要载体的身份仍未确定,NHPs 被认为只是偶然的宿主;这也可能是缺乏持续更新的血清调查数据。基于动物伦理、动物保护和生物安全的考虑,现在已经不可能像当年研究天花一样深入非洲丛林。

2.2 啮齿类动物的自然感染

1970 年在人猴痘病例出现后,收集动物样本的地理范围缩小到刚果的热带雨林。1985 年从西非松鼠体内分离出猴痘病毒,被捕获的松鼠体表有明显的皮疹^[5]。1986 年在刚果(金)的大规模调查发现,24.7% 的西非松鼠、16.2% 的红腿太阳松鼠有特异性抗体;松鼠也是当地唯一一种常被人捕捉的动物^[9]。包含这项研究的更大规模的生态学调查发现 23.7% 非洲松鼠(属)、14.9% 的太阳松鼠(属)特异性抗体阳性,而超 1000 例其他啮齿类与食虫类则未检出^[10]。1996~1997 年的调查发现,25% 的野生动物(以松鼠为主)检出抗 OPXV 中和抗体。病毒蚀斑减少中和抗体试验显示,刚果(金)一地区 59 只动物中 15 只阳性,包括冈比亚颊囊鼠、四趾岩象

鼯、西非松鼠、库氏非洲松鼠、太阳松鼠等^[16]。

2003 年美国发生猴痘疫情, 传染源被确定为运输途中 3 种从非洲进口的啮齿类动物。包括 1 只冈比亚颊囊鼠、3 只非洲睡鼠和 2 只绳松鼠; 与冈比亚颊囊鼠密切接触的(北美)草原犬鼠被感染并将病毒传播给人类^[2]。尽管这些动物受到普遍关注, 但 2012~2015 年在刚果(金)捕获的 353 只动物中阳性率很低; 仅 7 只有抗 OPXV 的 IgG 阳性, 种类包括非洲松鼠、红腿太阳松鼠、扎伊尔颊囊鼠、扎伊尔睡鼠、四趾岩象鼯、褐鼻鼠^[17]。2017 年刚果(布)的调查发现, 在啮齿类 105 只动物中仅 2 只非洲巨颊囊鼠抗 OPXV 的 IgG 抗体阳性^[18]。2018 年调查发现, 西非(主要是刚果)的猴痘疫源地与非洲松鼠属的分布高度重叠, 包括西非松鼠、高山非洲松鼠、库氏非洲松鼠、饰纹非洲松鼠、红足非洲松鼠等^[19]。

非洲啮齿动物被认为是最可能的宿主, 既包括松鼠科的非洲松鼠(绳松鼠)、太阳松鼠, 也包括其他啮齿类动物如非洲睡鼠、冈比亚颊囊鼠、非洲跳鼠、非洲帚尾豪猪等; 还包括其他非啮齿类动物, 如象鼯、非洲刺猬等。除此之外, 其他大洲的动物也能被病毒感染, 如旱獭(*Marmota bobak*)、草原犬鼠、(美洲)负鼠、大食蚁兽等^[1, 15]。

3 猴痘病毒的隐性感染与显性感染

3.1 猴痘病毒的隐性感染

动物的 MKXV 自然感染, 部分是隐性感染。1959 年美国宾夕法尼亚州默沙东实验室的食蟹猴和恒河猴因为与非洲绿猴共用笼舍而感染, 大约 5% 非洲绿猴被感染而没有症状^[2]。1962 年, 美国 Walter-Reed 陆军研究所报告 27 只食蟹猴中 3 只出现猴痘症状。其余的食蟹猴、恒河猴、非洲绿猴群 HI 抗体呈不同程度阳性^[4]。当时普遍接种天花疫苗, 工作人员未见感染^[4]。

野外的成年黑猩猩可以表现为隐性感染, 既无症状也无皮疹, 也有少数青少年或更小的黑猩猩表现为隐性感染^[12], 个别成年黑猩猩偶发咳嗽。自然感染的非洲巨颊囊鼠也可以表现为隐性感染, 外表无异常, 仅性腺检出病毒 DNA, 且抗体阳性^[20]。

MPXV 的实验性感染也可表现为隐性感染。食蟹猴和某些新大陆猴在 MPXV 滴鼻感染后无症状, 而抗牛痘的 HI 抗体阳性^[6]。冈比亚颊囊鼠滴鼻感染后没有明显临床症状, 病毒载量升高不明显, 体液可检测到活病毒^[21]。

隐性感染在非洲当地人群中广泛存在。如 49.1% 刚果(布)北部人群(≤ 25 岁)和 37% 的加纳年轻人(< 23 岁)抗 OPXV 抗体阳性。更具有说服力的是针对喀麦隆黑猩猩收容所疫情的调查报告。在受访的 63 人中(未接种天花疫苗), 4 人(1 个饲养员和 3 个附近的村民)血清抗 OPXV 抗体 IgG 阳性而从未出现过猴痘症状^[13]。

临床病例也可见隐性感染。有报道发现 224 例临床男性肛肠标本中 3 例猴痘 PCR 阳性。他们在采样前后的几周内都没有出现过任何症状。采样后 21~37 d, 标本检测不到病毒 DNA^[22]。98% 的感染者是同性恋或双性恋男性^[23]的事实也说明非肛交途径感染如呼吸道途径、接吻等途径感染极少出现症状, 而表现为隐性感染。

3.2 猴痘病毒的显性感染

啮齿类动物一般表现为显性感染。这些敏感动物的种类很多, 但只有部分感染后出现皮疹, 如西非松鼠、草原犬鼠^[24]、旱獭^[25]、非洲巨颊囊鼠^[21, 26]等, 其他动物感染后即使死亡也未见皮疹或者尚未发皮疹。睡鼠、松鼠猴等多种动物感染后不一定出现皮疹^[20]。

非人灵长类的显性感染: NHPs 的显性感染最经典案例是荷兰鹿特丹动物园的疫情。大食蚁兽首先发病, 并出现典型症状后死亡, 接着红毛猩猩、黑猩猩、大猩猩、枭面长尾猴、亚洲猕猴、长臂猿、松鼠猴、狨被感染并出现类似皮疹。半圈养的黑猩猩感染后食欲不振, 前肢出现渐进性小疱和皮肤结节样突起, 并有 1 只死亡^[13]。在野外, 部分自然感染的幼龄黑猩猩发病, 呼吸道症状明显, 如呼吸困难、咳嗽等; 可伴发疹, 而不一定是弥漫性的痘疹; 但是成年个体一般无症状^[12]; 病情与年龄相关的原因不明。监测表明, 该地区的 MPXV 是突然出现的, 这意味着成年个体不是因为长期在环境中接触过该病毒的抗原而获得了免疫力。

人类的显性感染: 人类的显性感染至少有 3 种类型。第一类是典型的天花样病变, 如刚果(金)1970~1983 年的病例, 有发疹、淋巴肿大等体征, 约 60% 的患者皮疹超过 100 个。这些症状、体征都无法与天花区分。第二类是 2003 年美国猴痘疫情, 与患病的草原犬鼠的密切接触者出现多种症状。非侵入性感染者病情较轻, 相应症状和体征出现比例更少^[27]。复杂途径感染者潜伏期更短, 前驱期无发热而直接出现皮疹, 短暂的皮疹期之后有长的发

热期^[27]。第三类是非典型症状的猴痘感染,如 2022 年新出现的肛交感染群体,其中包括部分人类免疫缺陷病毒(human immunodeficiency virus, HIV)感染者,这类感染者缺乏呼吸道病变症状,如咳嗽等,皮疹也很少,大部分人只有数个^[23]。

4 猴痘病毒与 HIV 的共感染

最近,同性恋和双性恋群体因肛交(肛门直肠粘膜感染)而成为 MPXV 感染的主要群体,该群体也是 HIV 感染的高发群体。大型病例分析发现, HIV 感染的猴痘患者比例很高。英国 26% 的已知猴痘病例是 HIV 感染者,而欧洲国家这一比例为 37%;美国 41% 的 MPXV 感染者同时也是 HIV 感染者;西班牙的两个大城市,40% 感染者 HIV 阳性^[23]。

西非近年来出现的猴痘患者的死亡被认为与未经治疗的 HIV 感染有关。尼日利亚 40 名 MPXV 感染者中 5 人死亡;合并 HIV 的感染患者 9 人,其中 2 人死亡。与 MPXV 单感染相比,共感染患者病程更长,痘疹更大,继发性细菌皮肤感染和生殖器溃疡的比例更高^[28];这与欧美的发病率有较大差距。尼日利亚 5 名共感染患者均有继发性感染,而 MPXV 单感染患者继发性感染不到 1/3,这说明这些共感染患者的病毒载量没有得到控制,有免疫缺陷而无法控制感染,因此死亡风险较高。欧美共感染患者的病毒载量控制在非常低的水平,CD4⁺T 细胞数量也大致在正常水平^[23],这应该是欧美共感染极少出现死亡病例的原因。最近几年的调查也显示,刚果(金) HIV 的实际上的感染率为 11%,这远超过先前的估计的 2.86%^[29]。动物实验也证实, SIV 感染的恒河猴进入艾滋病阶段后即使用天花疫苗免疫,MPXV 攻毒的恒河猴也会很快死亡^[30]。

还有部分非洲猴痘患者死亡与 HIV-1 共感染无关,当地的猴痘病毒有较高的致病性。尼日利亚 MPXV 单感染患者中,3/31 死亡,3/5 的患者皮疹数在 100 个以上^[28]。2003 年美国疫情患者中,约半数以上患者皮疹少于 25 个^[27],而 2022 年的欧美同性恋群体中接近 40% 的患者皮疹不到 5 个,且尚未出现死亡病例。这说明非洲当地的猴痘感染的病情比其他地区更严重。

除了 HIV,猴免疫缺陷病毒(SIV)可能是另外一种共感染的病原体。喀麦隆的调查发现,猎人(高暴露群体)的 SIV 阳性率为 17.1%,而这些人同时也是猴痘的高发人群^[31]。

非洲当地的 NHP 也存在共感染。西非和中非是 SIV 的疫源地, SIV 的自然宿主主要是携带 SIVsmm 的白枕白眉猴和携带 SIVcpz 的黑猩猩,也包括非洲绿猴、疣猴和狒狒等。另外,猴痘病毒宿主与 SIV 灵长类自然宿主的种类与分布地域重合。

5 实验性感染与动物模型

5.1 不同毒株的实验性感染

WHO 将 MPXV 分为两个演化支。包括刚果盆地支和西非支。前者感染病死率约为 10%,后者感染较轻,致死率低。刚果支(中非支)可以继续细分为 I ~ V 组^[3]。一种新的分类方法将刚果支命名为 Clade 1,将西非支进一步分为 Clade 2 和 Clade 3;演化支 Clade 3 基本上都是人源性毒株^[32];也有分类方法直接将人人传播的所有毒株归属于 Clade 3^[33]。

刚果株(Zr-599)比西非株(Liberia)病毒致病性更强。从食蟹猴的实验性感染看,不管是皮下注射还是滴鼻感染,刚果株感染后,猴呼吸道、泌尿生殖系统和胃肠道病变更严重,刚果株感染猴的血液病毒载量比利比亚株高约 10 倍。刚果株感染比西非株有更多的皮疹数量和更严重的溃疡性病灶^[34]。

小鼠(CAST/EiJ)的滴鼻的实验发现,刚果株(Z79-CB2)感染的存活率更低,10 PFU 腹腔注射可导致半数死亡,但动物体重并未见下降;滴鼻感染时,半数致死剂量(LD₅₀)比西非株感染至少低一个数量级。刚果株滴鼻感染的小鼠以肺组织病毒滴度最高,达 10⁹ PFU/g,肝、脾的病毒滴度明显偏低;腹腔注射时,脾、肝、肺病毒载量都很高,而脾最高。西非株(USA-C1)滴鼻感染时,感染剂量达到 10⁴ 时才出现半数死亡率。肺、卵巢、脾都有较高滴度病毒;感染剂量与组织中的病毒滴度峰值缺乏相关性^[35]。这说明不同毒株在小鼠组织器官中增殖与感染途径和剂量有关。

最近发现,加拿大的分离株 Clade 1(刚果株 V79-1)和 Clade 2(西非株 SP2833)对 CAST/EiJ 并未显示强的致病性,甚至 10⁴ PFU 滴鼻感染未见死亡^[36],这说明该小鼠模型还有进一步优化的必要。

5.2 啮齿类的实验性感染与动物模型

豚鼠、仓鼠对 MPXV 不敏感,无皮疹,实验性感染无死亡。成年兔和成年大白鼠感染后不易死亡,但幼龄的兔和大鼠很易死亡。棉鼠、欧亚红松鼠、非洲松鼠、十三纹地松鼠、草原犬鼠、CAST/EiJ 小

鼠、睡鼠均非常敏感,攻毒易导致死亡。死亡也与感染途径有关,如小鼠、草原犬鼠滴鼻感染的死亡率比静脉注射的死亡率少 50%^[24]。

早獭模型:早獭低剂量滴鼻感染显示,病毒首先在气管、肺组织复制,然后是鼻甲、结肠、皮肤等处。中高剂量皮下注射感染时,除了气管、支气管和肺,皮疹、鼻粘膜、睾丸/卵巢、腹股沟淋巴结、肾、脑等组织器官病毒滴度也很高^[25]。肝并未检出高滴度的病毒,这有别于草原犬鼠等其他动物。睾丸与脑组织中检出一定量的病毒,这说明病毒能通过脑屏障和血睾屏障,可能出现神经病变。实际上早獭容易出现生殖系统病变。两种不同剂量的攻毒实验发现,在多种组织器官中,睾丸甚至与皮疹有同样高的病毒滴度^[25]。这与同为地松鼠族的草原犬鼠有较大差异。天花疫苗免疫过的早獭能预防 MPXV 感染的动物发病,而未免疫组全部动物发病,半数动物死亡。这说明早獭合适作为猴痘疫苗有效性评价的模式动物^[25]。

草原犬鼠模型:野外捕捉的黑尾草原犬鼠在荧光素酶基因的重组病毒(西非株 USA-2003)腹腔注射($10^{5.1}$ PFU)感染后,所有动物在 11 d 内全部死亡。尸检发现,肝、脾、肺、肾的病毒滴度较高。病理染色可见肝、脾有小灶性坏死,肺内轻度炎性改变。滴鼻途径感染的主要病理改变在肺和胸膜腔;因为胸膜腔纤维素渗出而有胸膜和肺的轻度粘连。3/5 的动物死亡,死亡动物中,仅 1 只肺检出高滴度病毒。动物的嘴唇、舌和颊黏膜上也有溃疡性改变^[37]。腹腔注射与滴鼻感染的死亡率和生存时间差异较大,这说明感染部位或攻毒方式对感染结局影响较大。通过活体成像技术检测动物的病毒载量也是一种非常直观的方法,如用荧光素酶基因的重组 MPXV(西非株)和野生型毒株(5×10^4 PFU)滴鼻感染(德克萨斯州)野外捕捉的黑尾草原犬鼠。该方法的局限性是组织器官的病毒量检测需要离体标本。感染第 6 天,肝的荧光强度最高,个别肠段、下颌淋巴结荧光强度较高,心、肺较低;感染第 9 天病毒载量较低。感染后 6~17 d,皮疹的病毒滴度最高,其次是舌;其他组织如鼻甲和颌下淋巴结也较高^[38]。

免疫组化染色发现,病毒抗原在有皮疹、舌鳞状上皮细胞和细支气管粘膜上皮细胞质中含量很丰富^[39]。局部病毒富集引起了组织病变,如水肿、渗出、坏死,出现了脓疱、溃疡。

十三纹地松鼠(学名多纹黄鼠)在 $10^{5.1}$ PFU (USA-03 毒株)腹腔注射和滴鼻途径后,所有动物都出现暴发性感染,并在感染后 6~9 d 后死亡,腹腔注射比滴鼻感染生存时间更短。死亡前数天的血液和口咽分泌物可通过培养分离到活病毒;尸检发现器官的病毒滴度从高到低依次为肝、脾、肺、肾、心、脑;但两种途径感染后组织器官的病毒载量几乎无差异。肝、脾病毒抗原阳性表达明显,HE 染色可见明显肺间质增宽^[40]。肺间质增宽是病毒性肺炎的病理改变,是呼吸系统应该关注的病变类型。

西非松鼠模型:刚果(金)当地的西非松鼠用荧光素酶标记的 MKXV 刚果株用 10^6 PFU 滴鼻感染后,排毒以口腔拭子滴度最高,鼻拭子样滴度稍低;肛门排毒持续时间最短。皮内感染后,口拭子、肛拭子病毒滴度峰值稍高于眼、鼻拭子;口、鼻、眼的排毒持续时间基本相同。两者比较,滴鼻感染的体外排毒期短,而病毒滴度峰值稍高。从体内病毒复制看,滴鼻途径的荧光强度稍高,而两者病毒增殖的趋势基本相同。总体上,滴鼻组 3/4 的动物死亡,皮内组 2/4 的动物死亡;但取材后仅在唇、舌、皮疹等处检测到高病毒载量^[41]。这对于猴痘感染疑似人群的筛查有指导意义。

冈比亚颊囊鼠模型:美国佛罗里达州野外捕捉的冈比亚颊囊鼠,用带荧光素酶基因的重组病毒(中非株) 10^6 PFU 经皮内注射感染,通过荧光值估计病毒载量,3 只动物病毒载量在第 8~14 天达到峰值,21 d 后恢复到背景水平。病鼠可见角膜炎、牙龈炎;皮肤有突起,但无溃疡^[21]。同样地点捕捉的冈比亚颊囊鼠(或为扎伊尔颊囊鼠)用刚果株和西非株(4×10^4 PFU)皮下接种后,体温显著升高,活动减少,体重下降。西非株感染后病毒载量最高的组织是肠系膜淋巴结,其次是接皮肤接种点;其他组织器官如皮肤、脾、肾、心、肺、肝等病毒载量也较高。皮肤、舌面可见皮疹,但不同毒株组未见差异。总体上,西非株感染组排毒量更高,口腔拭子的病毒载量峰值比鼻拭子高 2 个数量级以上,肛拭子载量最低。刚果株感染后排毒非常早,无死亡。两毒株活病毒排毒持续时间基本相同,但拭子 PCR 检测发现,西非株的阳性持续时间更长^[26]。

非洲睡鼠模型:非洲睡鼠对 MPXV 十分敏感,5 PFU 滴鼻即可导致 20% 的死亡^[35];还有研究显示 2 PFU 滴鼻感染即可引起 >1/3 的睡鼠死亡。 10^4 PFU 滴鼻感染后组织器官的病毒滴度在 2~5 d 内逐渐

升高;滴度最高的是肝,其次是脾和肺,再次为鼻洗液和血液。睡鼠感染后可见消瘦和结膜炎、鼻黏膜坏死性炎,未见皮疹;但内脏病变十分明显。病变包括坏死性改变,如呼吸道黏膜柱状上皮细胞层坏死、肝内点状坏死、淋巴结与脾中淋巴细胞减少,特别是部分淋巴结中淋巴细胞明显减少;还可见出血性改变,如脑出血、胆管的粘膜下出血^[42]。非洲睡鼠在低剂量滴鼻感染带荧光素酶的重组病毒后,活体成像显示睡鼠腹部、口鼻部和胸部荧光强度非常高;组织器官中肝的病毒滴度最高($>10^9$ PFU);其次为脾、肺、鼻甲等,而卵巢载量较低^[43]。自然感染的睡鼠,病毒载量最高的器官也是肝,其次为脾和肺^[20]。总之,非洲睡鼠滴鼻感染 MPXV 后,肝的病毒载量^[20]或滴度最高^[42-43],其滴度甚至明显高于其他器官^[42]。非洲睡鼠自然感染的途径不明,气溶胶吸入、唾液吞食或抓咬伤等都有可能。用该模型检验天花疫苗 Dryvax 或药物 Cidofovir 的有效性,发现 Cidofovir 能明显降低滴鼻感染的死亡率,而 Dryvax 接种对猴痘也有很好的保护效果^[42]。

小鼠模型:小鼠属各品种、品系对 MPXV 敏感性的差异非常大。常见的近交系小鼠 BALB/c 和 C57BL/6 对 MPXV 有很强的抵抗力;而野生近交系小鼠,如 CAST/EiJ、MOLF/EiJ、PERA/EiJ 等在低剂量 MPXV 刚果株感染后会发病并死亡。CAST/EiJ 小鼠的腹腔注射感染比滴鼻感染病变更严重,半数致死量(LD50)更小。腹腔注射(10^4 PFU)感染的小鼠脾、肝、肺病毒滴度都高,而滴鼻感染的肺病毒滴度很高,其他器官较低^[35];另一实验也证实,CAST/EiJ 小鼠滴鼻感染($2 \times 10^4 \sim 2 \times 10^5$ PFU) Z06 毒株后,病毒主要聚集在口鼻部位,内脏中肺的病毒滴度最高,其他组织如肝、脾、脑、卵巢病毒载量比肺低两个数量级以上^[43]。CAST/EiJ 小鼠滴鼻感染($10^2 \sim 10^6$ PFU) Z79 毒株后,组织器官的病毒滴度以肺为最高,明显高于肝、脾、脑、肾等,另外肺病毒滴度持续时间也 longer^[44]。

CAST/EiJ 小鼠模型也被用于药物的有效性评价,如细胞因子 IL-15 注射被证实对 MPXV 的腹腔感染有明显的保护作用^[45]。也有研究表明,CAST/EiJ 对 MPXV 并不是很敏感, 10^4 PFU 的病毒滴鼻感染后,小鼠无死亡^[36]。病毒在小鼠呼吸道中能有效复制,每日口服 TPOXX 治疗可显著降低感染后 1 周和 2 周组织中的病毒滴度^[36]。另外,干扰素及其受体基因缺陷,如 C57BL/6 小鼠 *IFN γ* 和 *IFN γ R* 基因

缺失在一定程度上影响感染的结局^[44]。干扰素通路相关基因缺失也会影响感染结局,如 C57BL/6 *stat1*^{-/-} 小鼠,相对低剂量的鼻内感染后 10 d 内全部死亡,而 C57BL/6 小鼠用更高剂量感染也不死亡。基因缺陷对病毒感染的影响还与动物背景有关,如刚果株滴鼻感染,C57BL/6 *stat1*^{-/-} 比 129 *stat1*^{-/-} 小鼠病变更严重,甚至出现神经病变。免疫缺陷小鼠 SCID 比 *IFN- α/β R*^{-/-} 和 *IFN- γ R*^{-/-} 小鼠更敏感,低剂量滴鼻也会出现死亡^[46]。总体上,体重变化和死亡率等与毒株、感染剂量和感染途径有关。

BALB/c 小鼠对 MPXV 不敏感,滴鼻感染时病毒复制主要局限于肺部^[44],可以用作轻症模型。

总之,动物种类、感染方式和感染剂量对病毒的组织嗜性有较大影响。滴鼻途径感染时,病毒更倾向于在肺组织中复制。对草原犬鼠、十三纹地松鼠和非洲睡鼠而言,MPXV 有更明显的嗜肝性,这可能是这些动物比其他敏感动物更容易死亡的原因。

5.3 非人灵长类的实验性感染与动物模型

黑猩猩对天花病毒很敏感,是理想的模式动物。后来发现黑猩猩对猴痘病毒也很敏感,黑猩猩也因此一度作为猴痘的模式动物。

美洲的普通狨(*Callithrix jacchus*)对猴痘病毒也十分敏感,病毒血症出现早。狨猴模型与睡鼠模型均有严重的出血症状,与出血型天花类似。极低剂量即可导致动物死亡,因此是非常合适的重症感染模型^[47]。

食蟹猴与恒河猴是抗猴痘病毒药物与疫苗有效性评价最常用的模式动物。与黑猩猩和狨猴相比,这两种旧大陆猴对 MPXV 的相对不敏感性,但中高剂量病毒感染后也会导致动物死亡^[2]。气溶胶雾化吸入感染实验猴是最常用的方法之一,在以前被认为是最接近人类自然感染的攻毒方法,静脉注射病毒也是较常用的方法,但不是自然感染。气管内滴注也是一种模拟自然感染的方法,病毒液会进入某个肺叶,这样可能会出现某个肺叶病变严重而其他肺叶病变轻或无病变的情况。还有一种支气管镜深入支气管分叉处喷雾的方法,有别于普通的气管内滴注^[48]。同样剂量的病毒通过呼吸道途径感染时,感染方式不同(如气溶胶、气管内滴注、支气管内滴注、经支气管喷雾等),实验猴的症状、体征、病毒血症持续时间及生存时间也会有一定差异。这些也因动物种类不同而有所差异,如食蟹猴与恒河猴静脉注射相同剂量刚果株(Z79),恒河猴

血中病毒载量出现更早,而皮疹和死亡出现稍晚^[2]。食蟹猴感染后血液的病毒载量呈一过性升高,然后回落到基线,没有平台期。攻毒剂大时动物容易死亡,而血液病毒载量过高也容易导致动物死亡,但病猴死亡时血液病毒载量不一定很高^[48]。

食蟹猴在气溶胶感染后的大体病变以肺/支气管炎、皮疹及口腔、舌黏膜炎症为主,镜下病变以呼吸系统(包括气管/支气管、肺、咽喉等)和淋巴结炎性改变为主,少见肝受累^[49]。支气管喷雾攻毒(Zr-79)可以导致部分食蟹猴死亡。病肺离体后保持膨胀状态。镜下呈小叶性肺炎改变,细小支气管内有大量炎性坏死性物质,伴肺水肿,管腔周边肺泡中可见大量液体渗出,这可以导致肺泡丧失气体交换功能。此外还可见肺充血和肺间质增宽,偶见肾小球血栓形成^[48]。另一项实验显示不同的感染途径结果差异较大。皮下感染比滴鼻感染病变更重,刚果株(Zr-599)皮下感染后组织器官普遍有病毒增殖,甚至胃粘膜表面也出现密集痘疹,而滴鼻感染后病变以淋巴结、皮疹为主。皮下感染比滴鼻感染的猴进食更少,体重减少更多,体温升高、病毒载量更高、急性期蛋白水平更高,总之,后果更严重^[34]。

气溶胶实验性感染的食蟹猴,免疫组化染色可见病毒抗原集中在鳞状上皮层表达,与周围组织界限分明,或在细支气管上皮细胞,其他管周细胞与渗出的炎性细胞也有表达。食蟹猴呼吸道感染的动物,下呼吸道上皮是原发性感染的主要靶点之一^[48-49]。不同巨噬细胞与单核细胞、DC 细胞有阳性表达。随着病程延长,病毒会随细胞从基底层迁移到更浅的鳞状上皮层,淋巴结皮质也有表达^[49]。

食蟹猴气管内或者静脉途径感染 Z79 后,急性期睾丸组织可见出炎症和坏死,睾丸间质细胞、精管和附睾管腔中检测到 MPXV。在恢复期,病毒已从大多数组织器官中清除,但睾丸中依然可以检测到病毒,病毒滞留时间长达 37 d。这说明 MPXV 通过性途径传播的可能性是很大的^[50]。

5.4 当前动物模型的问题

尽管敏感的动物很多,但理想的模式动物依然很少。现有的模式动物主要是松鼠科,体型偏大,使用很少,也非 SFP 级实验动物。现有的模型中,小鼠模型非常少,这不利于猴痘的动物实验开展。

现在已经有多种感染途径的动物模型,但是缺乏模拟近阶段人类自然途径感染的动物模型,如肛门、直肠途径甚至口咽途径(口交)感染的动物模

型。由于部分感染者是双性恋,女性可能通过性途径感染,包括生殖道黏膜的局部感染与上行感染,如阴道、宫颈、子宫甚至卵巢的急性炎症,因此需要建立经生殖道感染的动物模型。现有病人中,HIV 感染者占很大比例,因此需要利用免疫缺陷小鼠建立猴痘动物模型,如 SCID 小鼠、裸鼠、NSG 小鼠。

现有的动物模型以重症模型为主,发病动物的体征与症状非常明显,但是现阶段的猴痘病例中,严重病例非常少。因此,有必要建立轻症的动物模型或者隐性感染的动物模型。现有的动物模型一般使用成年动物,缺少婴幼儿个体等未成年动物模型,同时也缺少母婴传播的动物模型。

6 结语

猴痘疫情的暴发的原因是复杂的。除了常见的当地的丛林捕猎、丛林动物肉类交易和林地垦殖;也有我们忽略的原因,如丛林生态游、高端狩猎等;还有不为人知原因,如野生动物活体的非法贸易、饲养与肉类走私^[14]。

构建动物模型是非常必要的,如气溶胶/飞沫等呼吸道途径感染的模拟;孕妇感染后垂直传播模型的验证;抗猴痘疫苗与药物的有效性和安全性的评价;猴痘包括相关合并症、并发症等治疗方案的优化。构建不同病变程度的动物模型,如轻症模型、重症模型,不同组织器官的损伤模型,如呼吸道病变模型、肛肠粘膜病变模型和神经病变模型也是非常必要的。

构建动物模型也是非常紧迫的。MPXV 的暴发呈现新的特点,可能再次暴发并广泛传播,可能会发生重组与变异,出现高致病性毒株的流行。虽然猴痘病毒感的体征不严重,但患者主观上感受到剧烈持久的疼痛。这严重影响了患者的生活质量,也违背了生命伦理。因此我们应该及时构建动物模型控制这种疾病。

建议与措施:应尽快构建适合当前疫情的动物模型,特别是肛肠途径感染的动物模型和免疫功能缺陷的动物模型;应尽快构建适合抗猴痘疫苗与药物评价的动物模型,特别是杀精剂、抗病毒凝胶等外用药物;应尽快构建简便实用的小动物模型,特别是小鼠模型。2022 年 6 月,中国实验动物学会的第一届猴痘病毒在线学术沙龙呼吁从 5 个方面应对猴痘病毒的流行,包括加强基础研究、研发疫苗、加强生物安全管理、对公众普及猴痘的科学知识、加

强国际合作等^[51]。生物安全专家魏强教授也对此给出了类似的更详细的建议^[52]。

人类、动物与自然环境是一个利害关联的整体,并拥有一个共同的命运。MPXV 的传播不是一个孤立的事件,而是一个危害这一整体健康(One Health)的人兽共患病,因此我们应加强合作与联系,共同应对这种流行^[53]。截至 2023 年 6 月,中国内地新增猴痘确诊病例达 106 例。这存在大流行的可能性,已经构成了严重的公共卫生问题^[54]。用不同种类的动物,建立感染与疾病模型,或者建立不同感染途径的动物模型、不同病变类型的动物模型或者不同毒株感染的动物模型是非常必要的,这可以更深入的研究猴痘的致病特点,更有利于预防与治疗猴痘病毒的感染,更有利于人类卫生健康共同体的构建。

参考文献:

[1] Alakunle E, Moens U, Nchinda G, et al. Monkeypox virus in Nigeria; infection biology, epidemiology, and evolution [J]. *Viruses*, 2020, 12(11): 1257.

[2] Parker S, Buller RM. A review of experimental and natural infections of animals with monkeypox virus between 1958 and 2012 [J]. *Future Virol*, 2013, 8(2): 129-157.

[3] Berthet N, Descorps-Declère S, Besombes C, et al. Genomic history of human monkey pox infections in the Central African Republic between 2001 and 2018 [J]. *Sci Rep*, 2021, 11(1): 13085.

[4] Arita I, Henderson DA. Smallpox and monkeypox in non-human Primates [J]. *Bull World Health Organ*, 1968, 39(2): 277-283.

[5] Khodakevich L, Jezek Z, Kinzanzka K. Isolation of monkeypox virus from wild squirrel infected in nature [J]. *Lancet*, 1986, 1(8472): 98-99.

[6] Noble J Jr. A study of New and Old World monkeys to determine the likelihood of a Simian Reservoir of smallpox [J]. *Bull World Health Organ*, 1970, 42(4): 509-514.

[7] Breman JG, Bernadou J, Nakano JH. Poxvirus in West African nonhuman Primates; serological survey results [J]. *Bull World Health Organ*, 1977, 55(5): 605-612.

[8] Gispén R, Brand-Saathof BB, Hekker AC. Monkeypox-specific antibodies in human and simian sera from the Ivory Coast and Nigeria [J]. *Bull World Health Organ*, 1976, 53(4): 355-360.

[9] Khodakevich L, Szczeniowski M, Manbu-ma-Disu, et al. The role of squirrels in sustaining monkeypox virus transmission [J]. *Trop Geogr Med*, 1987, 39(2): 115-122.

[10] Khodakevich L, Jezek Z, Messinger D. Monkeypox virus; ecology and public health significance [J]. *Bull World Health Organ*, 1988, 66(6): 747-752.

[11] Radonić A, Metzger S, Dabrowski PW, et al. Fatal monkeypox

in wild-living sooty mangabey, Côte d'Ivoire, 2012 [J]. *Emerg Infect Dis*, 2014, 20(6): 1009-1011.

[12] Patrono LV, Pléh K, Samuni L, et al. Monkeypox virus emergence in wild chimpanzees reveals distinct clinical outcomes and viral diversity [J]. *Nat Microbiol*, 2020, 5(7): 955-965.

[13] Guagliardo SAJ, Monroe B, Moundjao C, et al. Asymptomatic orthopoxvirus circulation in humans in the wake of a monkeypox outbreak among chimpanzees in Cameroon [J]. *Am J Trop Med Hyg*, 2020, 102(1): 206-212.

[14] Devaux CA, Mediannikov O, Medkour H, et al. Infectious disease risk across the growing human-non human primate interface: a review of the evidence [J]. *Front Public Health*, 2019, 7: 305.

[15] Reynolds MG, Doty JB, McCollum AM, et al. Monkeypox re-emergence in Africa; a call to expand the concept and practice of One Health [J]. *Expert Rev Anti Infect Ther*, 2019, 17(2): 129-139.

[16] Hutin YJ, Williams RJ, Malfait P, et al. Outbreak of human monkeypox, democratic republic of Congo, 1996 to 1997 [J]. *Emerg Infect Dis*, 2001, 7(3): 434-438.

[17] Doty JB, Malekani JM, Kalemba LN, et al. Assessing monkeypox virus prevalence in small mammals at the human-animal interface in the democratic republic of the Congo [J]. *Viruses*, 2017, 9(10): 283.

[18] Doshi RH, Guagliardo SAJ, Doty JB, et al. Epidemiologic and ecologic investigations of monkeypox, likouala department, republic of the Congo, 2017 [J]. *Emerg Infect Dis*, 2019, 25(2): 281-289.

[19] Tiew MS, Harrigan RJ, Thomassen HA, et al. Ghosts of infections past; using archival samples to understand a century of monkeypox virus prevalence among host communities across space and time [J]. *R Soc Open Sci*, 2018, 5(1): 171089.

[20] Hutson CL, Lee KN, Abel J, et al. Monkeypox zoonotic associations; insights from laboratory evaluation of animals associated with the multi-state US outbreak [J]. *Am J Trop Med Hyg*, 2007, 76(4): 757-768.

[21] Falendysz EA, Lopera JG, Lorenzsonn F, et al. Further assessment of monkeypox virus infection in Gambian pouched rats (*Cricetomys gambianus*) using *in vivo* bioluminescent imaging [J]. *PLoS Negl Trop Dis*, 2015, 9(10): e0004130.

[22] De Baetselier I, Van Dijk C, Kenyon C, et al. Retrospective detection of a symptomatic monkeypox virus infections among male sexual health clinic attendees in Belgium [J]. *Nat Med*, 2022, 28(11): 2288-2292.

[23] Thornhill JP, Barkati S, Walmsley S, et al. Monkeypox virus infection in humans across 16 countries-April-June 2022 [J]. *N Engl J Med*, 2022, 387(8): 679-691.

[24] Hutson CL, Damon IK. Monkeypox virus infections in small animal models for evaluation of anti-poxvirus agents [J]. *Viruses*, 2010, 2(12): 2763-2776.

[25] Sergeev AA, Kabanov AS, Bulychev LE, et al. Using the ground squirrel (*Marmota bobak*) as an animal model to assess monkeypox drug efficacy [J]. *Transbound Emerg Dis*, 2017, 64

- (1): 226–236.
- [26] Hutson CL, Nakazawa YJ, Self J, et al. Laboratory investigations of African pouched rats (*Cricetomys gambianus*) as a potential reservoir host species for monkeypox virus [J]. *PLoS Negl Trop Dis*, 2015, 9(10): e0004013.
- [27] Reynolds MG, Yorita KL, Kuehnert MJ, et al. Clinical manifestations of human monkeypox influenced by route of infection [J]. *J Infect Dis*, 2006, 194(6): 773–780.
- [28] Ogoina D, Iroezindu M, James HI, et al. Clinical course and outcome of human monkeypox in Nigeria [J]. *Clin Infect Dis*, 2020, 71(8): e210–e214.
- [29] Berg MG, Olivo A, Harris BJ, et al. A high prevalence of potential HIV elite controllers identified over 30 years in Democratic Republic of Congo [J]. *EBioMedicine*, 2021, 65: 103258.
- [30] Edghill-Smith Y, Bray M, Whitehouse CA, et al. Smallpox vaccine does not protect macaques with AIDS from a lethal monkeypox virus challenge [J]. *J Infect Dis*, 2005, 191(3): 372–381.
- [31] Kalish ML, Wolfe ND, Ndongmo CB, et al. Central African hunters exposed to simian immunodeficiency virus [J]. *Emerg Infect Dis*, 2005, 11(12): 1928–1930.
- [32] Focosi D, Novazzi F, Baj A, et al. Monkeypox: an international epidemic [J]. *Rev Med Virol*, 2022, 32(6): e2392.
- [33] Harapan H, Ophinni Y, Megawati D, et al. Monkeypox: a comprehensive review [J]. *Viruses*, 2022, 14(10): 2155.
- [34] Saijo M, Ami Y, Suzuki Y, et al. Virulence and pathophysiology of the Congo Basin and West African strains of monkeypox virus in non-human primates [J]. *J Gen Virol*, 2009, 90(Pt 9): 2266–2271.
- [35] Americo JL, Moss B, Earl PL. Identification of wild-derived inbred mouse strains highly susceptible to monkeypox virus infection for use as small animal models [J]. *J Virol*, 2010, 84(16): 8172–8180.
- [36] Warner BM, Klassen L, Sloan A, et al. *In vitro* and *in vivo* efficacy of tecovirimat against a recently emerged 2022 monkeypox virus isolate [J]. *Sci Transl Med*, 2022, 14(673): eade7646.
- [37] Xiao SY, Sbrana E, Watts DM, et al. Experimental infection of prairie dogs with monkeypox virus [J]. *Emerg Infect Dis*, 2005, 11(4): 539–545.
- [38] Weiner ZP, Salzer JS, LeMasters E, et al. Characterization of Monkeypox virus dissemination in the black-tailed prairie dog (*Cynomys ludovicianus*) through *in vivo* bioluminescent imaging [J]. *PLoS One*, 2019, 14(9): e0222612.
- [39] Guarner J, Johnson BJ, Paddock CD, et al. Monkeypox transmission and pathogenesis in prairie dogs [J]. *Emerg Infect Dis*, 2004, 10(3): 426–431.
- [40] Tesh RB, Watts DM, Sbrana E, et al. Experimental infection of ground squirrels (*Spermophilus tridecemlineatus*) with monkeypox virus [J]. *Emerg Infect Dis*, 2004, 10(9): 1563–1567.
- [41] Falendysz EA, Lopera JG, Doty JB, et al. Characterization of Monkeypox virus infection in African rope squirrels (*Funisciurus* sp.) [J]. *PLoS Negl Trop Dis*, 2017, 11(8): e0005809.
- [42] Schultz DA, Sagartz JE, Huso DL, et al. Experimental infection of an African dormouse (*Graphiurus kelleni*) with monkeypox virus [J]. *Virology*, 2009, 383(1): 86–92.
- [43] Earl PL, Americo JL, Cotter CA, et al. Comparative live bioluminescence imaging of monkeypox virus dissemination in a wild-derived inbred mouse (*Mus musculus castaneus*) and outbred African dormouse (*Graphiurus kelleni*) [J]. *Virology*, 2015, 475: 150–158.
- [44] Earl PL, Americo JL, Moss B. Natural killer cells expanded *in vivo* or *ex vivo* with IL-15 overcomes the inherent susceptibility of CAST mice to lethal infection with orthopoxviruses [J]. *PLoS Pathog*, 2020, 16(4): e1008505.
- [45] Earl PL, Americo JL, Moss B. Lethal monkeypox virus infection of CAST/EiJ mice is associated with a deficient gamma interferon response [J]. *J Virol*, 2012, 86(17): 9105–9112.
- [46] Stabenow J, Buller RM, Schriewer J, et al. A mouse model of lethal infection for evaluating prophylactics and therapeutics against Monkeypox virus [J]. *J Virol*, 2010, 84(8): 3909–3920.
- [47] Mucker EM, Chapman J, Huzella LM, et al. Susceptibility of marmosets (*Callithrix jacchus*) to monkeypox virus; a low dose prospective model for monkeypox and smallpox disease [J]. *PLoS One*, 2015, 10(7): e0131742.
- [48] Goff AJ, Chapman J, Foster C, et al. A novel respiratory model of infection with monkeypox virus in cynomolgus macaques [J]. *J Virol*, 2011, 85(10): 4898–4909.
- [49] Zaucha GM, Jahrling PB, Geisbert TW, et al. The pathology of experimental aerosolized monkeypox virus infection in cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*) [J]. *Lab Invest*, 2001, 81(12): 1581–1600.
- [50] Liu J, Mucker EM, Chapman JL, et al. Retrospective detection of monkeypox virus in the testes of nonhuman primate survivors [J]. *Nat Microbiol*, 2022, 7(12): 1980–1986.
- [51] AMEM Editorial Office. The 1st online academic salon on monkeypox virus by Chinese Association for Laboratory Animal Sciences (2022, June 10th, Beijing, China) [J]. *Animal Model Exp Med*, 2022, 5(4): 399–400.
- [52] Wei Q. Is China ready for monkeypox? [J]. *Animal Model Exp Med*, 2022, 5(4): 397–398.
- [53] AMEM Editorial Office. One health, monkeypox prevention, and treatment: the second online academic salon on monkeypox virus by the Chinese Association for Laboratory Animal Sciences (August 26, 2022, Beijing, China) [J]. *Animal Model Exp Med*, 2022, 5(5): 487–488.
- [54] Keebayoon A, Mungmunpantipantip R, Wiwanitkit V. China and monkeypox: correspondence [J]. *Animal Model Exp Med*, 2022, 5(5): 485–486.