

三类病毒性新发传染病动物模型的研发及应用进展概述

李 峰^{1,2}, 李 顺^{1,2}, 任晓楠^{1,2}, 周晓辉^{1,2}

(1. 复旦大学附属上海市公共卫生临床中心, 上海 201508;

2. 上海市新发与再现传染病研究所, 上海 201508)

[摘要] 动物模型是研究新发传染病的致病机制以及开发针对性疫苗和药物的重要基石, 它对于人们加深对新发传染病的科学认识, 从而研究和制定有效的防治措施等, 具有不可取代的重要价值。本文针对近年来严重危害人类生命健康的三类病毒性新发传染病原(冠状病毒、黄病毒和流感病毒), 简明概述相应实验动物模型的构建及应用研究进展, 并比较它们各自的优缺点, 从而为进一步研究冠状病毒(特别是2019新型冠状病毒)、黄病毒(寨卡病毒和登革病毒)和流感病毒等导致的新发传染病的致病机制, 以及在相应疫苗和药物研发中选择合适的动物模型提供一定的参考。

[关键词] 冠状病毒; 黄病毒; 流感病毒; 感染动物模型

[中图分类号] Q95-33 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1674-5817(2020)03-0173-10

近年来, 冠状病毒、黄病毒和流感病毒等引起的新发传染病成为了严重危害人类生命健康的重要疾病。其中, 冠状病毒是单正链 RNA 病

毒, 具有高突变率特征, 可导致人和动物呼吸系统感染和肠道感染。最近新冠病毒引起的全球疫情仍在进展中。另外, 黄病毒科中的寨卡病毒(Zika virus, ZIKV)和登革病毒(dengue virus, DENV)均是以蚊子为主要传播媒介的单正链 RNA 病毒, 前者感染人可引起成人格林巴利综合征和新生儿小头症, 后者感染可以引起登革热、登革出血热和登革休克综合征。而流感病毒属于正黏病毒科, 为单负链 RNA 病毒, 是感染人和动物呼吸系统最主要的病原体之一。以下分别对这3类病毒的动物模型研究进展进行概述。

[收稿日期] 2020-05-18

[基金项目] 国家重点研发计划(2016YFD0500208); 国家十三五传染病重大专项(2017ZX10304402-001-012, 2017ZX10304402-001-006); 国家自然科学基金(81471397, 31601908); 上海市科委实验动物专项基金(19140905300, 19140905301); 上海市公共卫生临床中心院内项目(KY-GW-2019-19, KY-GW-2018-11, KY-GW-2019-11)

[作者简介] 李 峰(1972—), 男, 副研究员, 从事基因编辑动物模型研究。E-mail: lifeng30286@shphc.org.cn
李 顺(1986—), 男, 副研究员, 从事基因修饰和感染性动物模型构建与应用研究。

E-mail: lishun86@126.com

任晓楠(1986—), 女, 主管技师, 从事肝脏人源化小鼠模型研究。E-mail: renxiaonan66@126.com
以上三位为共同第一作者

[通信作者] 周晓辉(1973—), 男, 研究员, 从事实验动物学、病原生物学研究。

E-mail: zhouxiaohui@shphc.org.cn

1 冠状病毒感染动物模型

目前发现可以感染人类的冠状病毒有7种, 其中3种为高致病性的冠状病毒, 包括严重急性呼吸综合征冠状病毒(severe acute respiratory syndrome coronavirus, SARS-CoV)、中东呼吸综合征冠状病毒(Middle East respiratory syndrome coronavirus, MERS-CoV)和严重急性呼吸综合征

冠状病毒 2(severe acute respiratory syndrome coronavirus 2, SARS-CoV-2)^[1-3]。最近, SARS-CoV-2 感染出现全球大流行, 世界卫生组织将这一新型冠状病毒肺炎疾病命名为 COVID-19 (coronavirus disease 2019)^[1-3]。

SARS-CoV-2 属于正冠状病毒亚科 β 冠状病毒属。SARS-CoV-2 感染和传播机制与 SARS-CoV 相似, 都是以人类细胞的血管紧张素转换酶 II (angiotensin converting enzyme II, ACE2) 作为受体^[4-6]。已知有多种动物已经被用于构建 SARS-CoV 和 MERS-CoV 的易感或疾病动物模型, 包括非人灵长类、雪貂、金黄仓鼠、新西兰白兔、免疫缺陷小鼠和野生型小鼠等^[7-13]。目前, SARS-CoV-2 的动物模型研究策略基本上参考了 SARS-CoV 和 MERS-CoV 的易感或疾病动物模型, 并取得了一定进展, 具体见表 1。

1.1 小鼠模型

目前有 3 种策略用于冠状病毒感染小鼠模型的研发: 第一种是使用野生型冠状病毒感染不同的小鼠品系(或亚系), 建立小鼠模型; 第二种是使用基因修饰小鼠作为冠状病毒感染的动物模型; 第三种是使用特定的小鼠品系进行病毒适应株的进化筛选后, 再使用病毒适应株感染小鼠, 建立合适的出现临床症状的小鼠模型。

研究证实, 人 ACE2(hACE2)是 SARS-CoV-2 的受体^[14]。秦川团队利用 hACE2 转基因小鼠建立 SARS-CoV-2 感染模型, 结果发现 hACE2 转基因小鼠在感染 SARS-CoV-2 后出现体质量减轻等症状, 而且病毒主要在小鼠肺部复制; 组织病理学表现为中度间质性肺炎, 而且在支气管上皮细胞、巨噬细胞和肺泡上皮细胞中发现了病毒抗原^[15]。

协作杂交系(collaborative cross, CC)小鼠是由一系列重组近交系小鼠按照严格的杂交育种方案(八亲本育种方案)杂交育种而成, 可以模拟人类的种群遗传多样性。CC 小鼠可以作为一个非常好的遗传资源平台, 用于新发和再发冠状病毒相关研究, 也可作为 SARS-CoV-2 感染的小动物模型^[16-19]。

需要说明的是, 以上这些小鼠模型不能完全模拟人体情况, 研究者目前仍在探索更合适的 SARS-CoV-2 感染小鼠模型。

1.2 仓鼠模型

仓鼠被 SARS-CoV-2 感染后, 出现体质量减轻、嗜睡、翘毛、驼背和呼吸急促等症状, 而且在肺部和肠道发现高水平表达的 SARS-CoV-2 抗原。此外, 将感染 SARS-CoV-2 的仓鼠和未感染的仓鼠放在一起, 未感染的仓鼠也会出现临床症状。SARS-CoV-2 存在飞沫传播和粪口传播的可能性^[20-21]。

1.3 雪貂模型

SARS-CoV-2 可以感染雪貂, 并能在上呼吸道复制长达 8 d; 但感染后的雪貂体温轻微升高, 不会造成严重疾病或死亡^[22-25]。

1.4 非人灵长类动物模型

对 SARS-CoV-2 感染猕猴模型的研究发现, 感染 SARS-CoV-2 后猕猴病情轻微, 体质量稍有减轻, 但无体温升高现象, 肺部显示与人相似的病理学症状^[26-27]。秦川团队的研究得到了相似的结论, 并且进一步发现 SARS-CoV-2 在猕猴模型中存在结膜感染途径。随后, 秦川等多个科学家联合团队又公布了有关 SARS-CoV-2 灭活疫苗有效性和安全性的临床前研究结果, 发现该疫苗在小鼠、大鼠和非人灵长类动物中均可诱导新冠病毒特异性中和抗体产生^[28-29]。

另外, 荷兰科研人员使用 SARS-CoV-2 对 8 只食蟹猴进行感染试验, 结果显示年长猴的鼻拭子和咽拭子中病毒载量比幼猴高; 病理解剖发现, 部分猴肺部明显受损, 该结果与人的 COVID-19 轻症很相似^[30]。美国科研人员的研究也显示, SARS-CoV-2 可以引起受感染猕猴发生呼吸道疾病, 且肺部 X 线计算机断层摄影(CT)显示明显的病理变化; 在所有猴的鼻拭子和咽拭子以及支气管灌洗液中均能检测到高水平的病毒载量^[31]。中国医学科学院对比了 SARS-CoV-2 感染 3 种非人灵长类动物模型的试验结果, 发现感染效果依次为猕猴>食蟹猴>狨猴^[32]。

综上, 猕猴和食蟹猴模型可用于评估治疗或预防 COVID-19 的疫苗和药物。

2 黄病毒感染动物模型

黄病毒科中有很多病毒可以引起人类疾病, 例如黄热病毒、西尼罗河病毒、ZIKV 和 DENV

表 1 冠状病毒 SARS-CoV-2、SARS-CoV 和 MERS-CoV 感染人及各种动物后的临床症状、病毒复制及组织病理变化

Table 1 Clinical signs, viral replication and histopathological changes of SARS-CoV-2-, SARS-CoV- and MERS-CoV-infected humans and various animals

感染物种	SARS-CoV-2	SARS-CoV	MERS-CoV
人	部分患者发烧。其中一部分患者具有呼吸困难和低氧血症的特征, 可在 1 周内迅速发展为急性呼吸窘迫综合征、败血性休克、代谢性酸中毒和凝血功能障碍, 甚至多器官功能障碍综合征	以发热为首发症状, 起病急, 并伴有肌肉酸痛、头痛、腹泻与全身乏力。重症患者易出现急性呼吸窘迫综合征	引起严重的呼吸道疾病, 其症状包括发烧、咳嗽及呼吸急促, 并伴有较高比例的急性肾衰竭和死亡
非人灵长类	猕猴: 病情轻微, 但无发烧现象, 肺部显示与人相似的病理学症状; 狨猴: 体温不变; 食蟹猕猴: 与人的 COVID-19 轻症很相似	猕猴: 不同的 SARS-CoV 株感染后, 出现不同的临床症状, 并且需考虑年龄; 狨猴: 出现发烧、腹泻、多灶性肺炎及肝脏组织病变	猕猴: 出现轻到中度的间质性肺炎改变, 未死亡; 狨猴: 出现中重度肺炎, 甚至死亡, 而且肺以外的其他组织如肾脏、肝脏和心脏亦均可检测到病毒核酸
雪貂	体温升高, 肺部检测出病毒复制, 临床症状较明显	肺部出现病毒复制, 产生特异性抗体, 出现骨髓炎、嗜睡临床症状和血脂生化指标异常, 并死亡	无体质量减轻, 也无其他感染的临床症状
仓鼠	存在飞沫传播和粪口传播的可能性	肺部出现组织学病变, 但无明显临床症状	无体质量减轻, 也无其他感染的临床症状
野生型小鼠	无明显临床症状	近交系小鼠(如 BALB/c、C57BL/6 和 129S)无明显临床症状; 老年 BALB/c 小鼠出现临床症状	腺病毒 Ad-hDPP4 瞬时转染后的 C57BL/6 和 BALB/c 小鼠出现临床症状
基因敲除小鼠	不详	CD1、Rag1 和 STAT1 基因敲除后未出现明显症状, 不致死	不详
人源化小鼠	mACE2-hACE2 转基因小鼠模型被感染后发生中度间质性肺炎, 肺泡间质有明显的巨噬细胞与淋巴细胞浸润, 而且在支气管上皮细胞、巨噬细胞和肺泡上皮细胞中发现病毒抗原	CK18-hACE2、CAG-hACE2 和 mACE2-hACE2 转基因小鼠出现临床症状, 但包括脑组织在内的肺外组织均存在病理变化, 可致死	模型感染后临床症状由重到轻依次为 VelociGene-hDPP4>hDPP4-KI>288-330 ^{+/+} mDPP4>CK18-hDPP4>SPC-hDPP4
协作杂交系 (CC)小鼠	不详	不同的品系出现不同的临床症状, 分析临床症状的不同可获知易感基因位点; 发现两个 CC 易感品系	不详
腺病毒感染小鼠	重组腺病毒载体瞬时转染 hACE2 基因后, 小鼠体质量减轻了 20%, 无死亡	不详	腺病毒 Ad-hDPP4 瞬时转染 IFN-I-KO 和 SCID-Rag1-KO 小鼠后, 出现临床症状

等。后两者常由蚊子传播, 近年来多次引起局部和大范围的疾病流行。ZIKV 和 DENV 由正链 RNA 包被病毒衣壳而构成^[33-34]。已知 ZIKV 感染可引起格林巴利综合征以及胎儿、新生儿小头畸形和先

天畸形。DENV 有 4 种血清型, 在非洲、美洲、东地中海、东南亚和西太平洋地区 100 多个国家引起登革热以及死亡率很高的登革出血热和登革休克综合征, 并呈地方性流行。构建 ZIKV 和

DENV 感染动物模型有利于探究以上疾病的发病机制以及宿主免疫反应机制，并用于评估新疗法、疫苗和抗体等(表 2)。

2.1 ZIKV 和 DENV 感染免疫缺陷小鼠模型

研究表明，I 型干扰素信号通路缺陷的小鼠对黄病毒的易感性增强^[35]。I 型干扰素受体(interferon alpha receptor 1, *IFNAR1*)基因缺乏小鼠(如 A129 小鼠)或干扰素调节因子(interferon regulatory factor, *IRF*)3、*IRF5* 和 *IRF7* 三基因缺失小鼠在皮下注射、腹腔或静脉接种 ZIKV 非洲株(MR 766 或 Dakar 1984)、ZIKV 亚洲株(H/PF/2013)或 ZIKV 美洲株(Brazil Paraiba_2015)后均表现为严重病症，如后肢无力、瘫痪和死亡^[36]。用阻断性抗 *IFNAR1* 单克隆抗体处理的野生型 C57BL/6 小鼠，腹腔接种 ZIKV Dakar 1984 后同样观察到类似的病症结果^[37]。

相比于 A129 小鼠，缺乏 *IFNAR1* 和 *IFNAR2* 的小鼠(AG129 小鼠)在感染 ZIKV 后表现出更大的易感性和更严重的疾病症状^[38]。通过皮内、皮下或腹腔接种 ZIKV 感染 AG129 小鼠，结果表明所有的 AG129 小鼠均表现出较严重的病症。研究发现，皮下接种仅 1 个空斑形成单位的 ZIKV 到 3~4 周龄的 AG129 小鼠，其致死率为 100%^[16]。AG129 小鼠感染 ZIKV 后表现出包括颤抖、运动失调和瘫痪等严重症状，这与感染 ZIKV 的 AG129 小鼠发生中枢神经系统病变以及在大脑、脊髓、脾脏和睾丸等组织中具有高病毒载量有关^[38]。

DENV 和 ZIKV 类似，同样也可感染 A129 小鼠和 AG129 小鼠等。DENV 感染 AG129 小鼠后，病毒复制水平较高，出现血小板减少、病毒血症和血浆渗漏等相应重症登革热临床症状，产生细胞因子风暴引起的免疫病理反应等^[39]。因而，AG129 小鼠较常用于 DENV 研究。与 AG129 小鼠相比，A129 小鼠感染 DENV 可产生免疫受损相对较轻的症

状，因此也可成功应用于相关研究^[40]。

2.2 ZIKV 和 DENV 感染免疫健全小鼠模型

7~8 日龄的野生型 C57BL/6 小鼠接种 ZIKV Dakar 41519 或 ZIKV H/PF/2013 后，小鼠出现中枢神经系统病症和部分致死现象^[41]。而皮下接种 ZIKV PRVABC59 到 1 日龄的 C57BL/6 小鼠可导致非致命性神经疾病，表现为震颤、共济失调，并且持续到 2 周后^[42]。1 日龄的新生 Swiss 小鼠通过皮下或颅内途径接种 ZIKV SPH 2015，也表现出嗜睡、共济失调和瘫痪等症状，表明 ZIKV 有感染大脑的迹象^[43]。

DENV 可感染免疫健全野生型小鼠，如 A/J、BALB/c 和 C57BL/6 等品系，并出现暂时的病毒复制^[44]。研究表明，DENV-2 病毒感染 A/J 小鼠后第 2 日，动物出现轻微的病毒血症，并可被 RT-PCR 方法检出^[45]。DENV-2 病毒感染 C57BL/6 小鼠后，外周血液中病毒含量呈峰状，感染后第 1 日病毒含量增加，第 3 日达到高峰，第 5 日出现下降趋势。DENV-2 病毒感染 BALB/c 小鼠后，其血液中病毒效价相对较低，因此较难检出^[46]。由此可见，DENV 在不同品系小鼠体内的复制水平有差异性。此外，小鼠年龄因素也会影响 DENV 的感染和复制，如 DENV 颅内接种野生型乳鼠也可表现出外周病毒血症^[47]。

2.3 ZIKV 和 DENV 感染非人灵长类动物模型

非人灵长类动物也被用来评估 ZIKV 生物学和致病机制。用亚洲系 ZIKV 株(H/FP/2013)感染猕猴，导致猕猴体质量轻度下降，注射部位周围出现轻度皮疹，部分动物血清肌酸激酶和丙氨酸转氨酶水平升高^[48]。此外，ZIKV 感染的猕猴在感染后 2~6 d 出现病毒感染高峰，但通常在第 10 日就无法检测到^[49]。通过多种研究方法，如 ZIKV 基因组原位杂交、交叉反应的黄病毒特异性单克隆抗体免疫组织化学和 RT-PCR 可检

表 2 寨卡病毒(ZIKV)和登革病毒(DENV)感染动物模型优缺点比较
Table 2 Comparison of the advantages and disadvantages of ZIKV- and DENV-infected animal models

动物模型类型	优点	缺点
免疫缺陷小鼠(A129 和 AG129)	较易感，应用较广泛	免疫缺陷，部分症状与人类不同，研究结果推至人类的可靠性降低
免疫健全小鼠	免疫健全，在一定程度上可替代免疫缺陷型小鼠用于研究	病毒血症维持时间短，不利于长时间对病毒
非人灵长类	在遗传学角度上与人更相似，可用于免疫反应研究和疫苗评估等	传播能力、致病机制的评价和研究不会产生典型的症状，个体间差异较大

测分析待检组织中病毒 RNA, 结果表明, 在猕猴和食蟹猴的多个组织中检测到有 ZIKV 感染, 包括次级淋巴器官、主要生殖道、肠、脑和脊髓^[50]。另外该研究还发现, 在一些个体的尿液、唾液和脑脊液中可检测到 ZIKV RNA, 在零星个体的阴道分泌物中也可检测到 ZIKV RNA^[50]。这些研究表明, 猕猴和食蟹猴可作为模型用于 ZIKV 感染细胞和组织倾向性等相关研究。

3 流感病毒感染动物模型

流感(influenza)是一种由流感病毒引发的急性呼吸道疾病。流感病毒属于正黏病毒科, 拥有反义单链 RNA 基因组, 可分为甲型流感病毒(influenza virus A)、乙型流感病毒(influenza virus B)和丙型流感病毒(influenza virus C)3 种类型。甲型流感病毒包含 8 个 RNA 片段, 分别编码聚合酶基础蛋白 1、聚合酶基础蛋白 2、血凝素(hemagglutinin, HA)、神经氨酸酶(neuraminidase, NA)、聚合酶酸性蛋白、病毒核蛋白、基质蛋白和非结构蛋白, 可分为 16 个 HA 亚型和 9 个 NA 亚型^[51]。甲型流感病毒不仅在人类中传播, 而且在家畜、家禽以及野生候鸟中均可传播^[52]。乙型和丙型流感病毒没有被划分不同亚型, 仅限于感染人类, 没有已知动物宿主^[53]。

禽流感病毒(avian influenza viruses, AIVs)属于甲型流感病毒属, 可分为高致病性和低致病性两种亚型^[54]。在 AIVs 中, A/H7N9 病毒被认为是一种可能在人类中引起流感大流行的病毒株^[55]。

流感动物模型在研究病毒致病性、疫苗研发、药物筛选和免疫反应等方面具有重要的科学意义。目前用于流感研究的动物模型主要包括雪

貂、啮齿类动物、非人灵长类动物、猪、犬、猫和禽类等(表 3)。

3.1 雪貂

20 世纪 30 年代, 雪貂就成为了第一个成功感染人流感病毒分离株的物种^[56], 由于其对流感病毒具有易感性, 而且其临床症状和传播动力学与人类非常相似^[57], 所以是一种理想的流感病毒感染与传播模型。雪貂针对广泛的人类流感病毒分离株均具有易感性, 如季节性 H1N1^[58]、大流行 2009 H1N1^[59]、H2N2^[60]、H3N2^[61]、H5N1^[61]、H7 亚型^[62]、H9N2^[63]以及乙型流感病毒^[64]。然而, 雪貂作为流感模型尚存在动物获取难、畜牧设施复杂和免疫试剂缺乏等缺点^[65]。

3.2 啮齿类动物模型

3.2.1 小鼠 人类流感病毒不能感染野生小鼠, 只有在肺部进行传代适应后才能建立感染模型^[66]。在小鼠中最常用的人类流感病毒之一是属于 H1N1 病毒的 A/Puerto Rico/8/34 型(PR8)。需要适应株进行感染是小鼠模型的一个主要缺陷, 因为传代会导致病毒基因突变^[67], 突变可能导致病毒复制动力学改变, 并使其获得逃避免疫应答的能力^[68]。另外, 不同品系小鼠对适应株的敏感性有所不同, 感染后很难观察到一些上呼吸道症状, 与人类存在一定差异^[69]。但小鼠仍然是研究流感病毒时使用最广泛的模型动物, 因为其具有易获取、饲养成本低和免疫学试剂完备等优势。

3.2.2 豚鼠 虽然感染豚鼠所需的病毒量较大, 但感染不需要传代适应的病毒株。而且与雪貂相比, 豚鼠温顺, 体型较小, 入组数量更多。目前已经证明乙型流感病毒可以在豚鼠中很好传播, 因此该模型成为了研究乙型流感病毒传播的唯一可用模型^[70]。然而, 豚鼠感染后不会出现临

表 3 各类流感病毒感染动物模型优缺点

Table 3 Comparison of the advantages and disadvantages of different animal models infected with influenza virus

动物模型	优 势	缺 点
雪貂	受体分布和临床症状与人类相似, 可自然感染, 是理想的传播模型	动物获取难, 入组动物少, 饲养系统复杂, 免疫学试剂少
啮齿类	动物体积小, 便于购买与饲养, 价格便宜, 操作方便, 免疫学试剂完备	临床体征与人类差异大
家猪	可自然感染, 是中间宿主	体型大, 对空间的要求高
非人灵长类	可自然感染, 与人类接近	受伦理、成本等限制, 不是理想的传播模型
禽类	禽流感病毒的主要宿主, 可评价其致病性与传播性	部分禽类感染后症状不明显

床体征,因此不是疫苗测试的理想模型^[71],但可以是研究疫苗影响传播的有效工具^[72]。

3.2.3 大鼠和棉鼠 大鼠(F344和SD)接种鼠适应株H3N2后,在肺泡灌洗液中可检测出炎性浸润和细胞因子,但病理改变较少^[73]。棉鼠可感染非适应株人类流感病毒,病毒可在上下呼吸道复制,产生肺部病理学改变,这与人类自然感染时的情况相似^[74]。

3.3 家猪

AIVs和人类流感病毒都可在自然条件下感染猪,所以猪被认为是流感病毒的中间宿主^[75]。家猪可感染大多数的流感病毒亚型,对H5N1具有易感性^[76]。虽然感染后的家猪可能会出现体温异常升高和呼吸系统症状,但死亡率很低^[77]。然而,家猪体型大,对饲养和实验空间的要求较高,因此很难成为一种理想的流感动物模型。

3.4 非人灵长类动物

非人灵长类动物可以自然感染流感病毒^[78],也可以成功感染许多流感分离株,包括季节性H1N1^[79]、H3N2^[80]、2009大流行H1N1^[81]、高致病性H5N1^[82]和H7N9病毒^[83]。非人灵长类动物是理想的流感病毒感染模型动物,但不是理想的传播模型动物,因为在感染季节性流感病毒后,除高致病性的病毒株外,非人灵长类动物通常不会出现任何症状。而且由于伦理限制和成本高昂等问题,非人灵长类动物的使用受限。

3.5 猫和犬

猫和犬流感模型主要用于研究它们对H5N1的易感性,结果发现猫和犬可以作为哨兵或将病毒传播给人类^[84]。但是猫和犬通常并不能很好地用于疾病和疫苗研究,所以应用不多。

3.6 禽类

禽类常用于评价AIVs的致病性与传播性。鸭和水禽是AIVs的主要宿主^[85]。野鸭比其他野生鸟类更容易感染低致病性AIVs,且感染后无症状^[86]。SPF级鸡常用于AIVs致病性评估与疫苗研发,而不同种类的鸭可用于病毒的地理分布研究^[87-88]。

4 结语

本文对3类常见且重要的新发RNA病毒的

现有动物模型进行了概述,并列表分析了它们各自的优缺点,这对于研究者选取合适的模型开展某种特定研究有一定借鉴意义。同时也要认识到,目前任何动物模型都有其局限性,针对任一种新发传染病的动物模型研究是一个不断深入进展的过程。可以相信,随着各种先进技术的发展与应用,未来必定会建立起更加能模拟人体实际情况、更加能适用于特定研究目的的新发传染病动物模型。

参考文献:

- [1] Lu R, Zhao X, Li J, et al. Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: Implications for virus origins and receptor binding[J]. Lancet, 2020, 395 (10224):565-574.
- [2] Zhu N, Zhang D, Wang W, et al. A novel coronavirus from patients with pneumonia in China, 2019[J]. N Engl J Med, 2020, 382(8):727-733.
- [3] de Wit E, van Doremalen N, Falzarano D, et al. SARS and MERS: recent insights into emerging coronaviruses[J]. Nat Rev Microbiol, 2016,14(8):523-534.
- [4] Wan Y, Shang J, Graham R, et al. Receptor recognition by novel coronavirus from Wuhan: An analysis based on decade-long structural studies of SARS[J]. J Virol, 2020, 94 (7):e00127-20.
- [5] Wrapp D, Wang NS, Kizzmekia S. et al. Cryo-EM structure of the 2019-nCoV spike in the prefusion conformation[J]. 2020, 367(6483):1260-1263.
- [6] Li F. Receptor recognition and cross-species infections of SARS coronavirus[J]. Antiviral Res, 2013,100(1):246-254.
- [7] Cockrell AS, Leist SR, Douglas MG, et al. Modeling pathogenesis of emergent and pre-emergent human coronaviruses in mice[J]. Mamm Genome, 2018, 29 (7/8), 367-383.
- [8] Nagata N. Participation of both host and virus factors in induction of severe acute respiratory syndrome (SARS) in F344 rats infected with SARS coronavirus[J]. J Virol, 2007, 81(4):1848-1857.
- [9] Martina BE, Haagmans BL, Kuiken T, et al. Virology: SARS virus infection of cats and ferrets[J]. Nature, 2003, 425 (6961):915.
- [10] Netland J, Meyerholz DK, Moore S, et al. Severe acute respiratory syndrome coronavirus infection causes neuronal death in the absence of encephalitis in mice transgenic for human ACE2[J]. J Virol, 2008, 82:7264-7275.
- [11] Yang XH, Deng W, Tong Z, et al. Mice transgenic for human

- angiotensin-converting enzyme 2 provide a model for SARS coronavirus infection[J]. *Comp Med*, 2007, 57:450-459.
- [12] McCray PB Jr, Pewe L, Wohlford-Lenane C, et al. Lethal infection of K18-hACE2 mice infected with severe acute respiratory syndrome coronavirus[J]. *J Virol*, 2007, 81: 813-821.
- [13] Roberts A, Vogel L, Guarner J, et al. Severe acute respiratory syndrome coronavirus infection of golden Syrian hamsters [J]. *J Virol*, 2005, 79(1):503-511.
- [14] Zhou P, Yang X, Wang X, et al. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin [J]. *Nature*, 2020, 579(7798):270-273.
- [15] Bao L, Deng W, Huang B, et al. The pathogenicity of SARS-CoV-2 in hACE2 transgenic mice[J/OL]. *Nature*, 2020(2020-05-07)[2020-05-10]. doi: 10.1038/s41586-020-2312-y.
- [16] Sutton TC, Subbarao K. Development of animal models against emerging coronaviruses: from SARS to MERS coronavirus[J]. *Virology*, 2015, 479/480:247-258.
- [17] Gretebeck LM, Subbarao K. Animal models for SARS and MERS coronaviruses[J]. *Curr Opin Virol*, 2015, 13:123-129.
- [18] Gralinski LE, Ferris MT, Aylor DL, et al. Genome wide identification of SARS-CoV susceptibility loci using the collaborative cross[J]. *PLoS Genet*, 2015, 11(10):e1005504.
- [19] Gralinski LE, Menachery VD, Morgan AP, et al. Allelic variation in the toll-like receptor adaptor protein Ticam2 contributes to SARS coronavirus pathogenesis in mice[J]. *G3 (Bethesda)*, 2017, 7(6):1653-1663.
- [20] Chan JF, Zhang AJ, Yuan S, et al. Simulation of the clinical and pathological manifestations of coronavirus disease 2019 (COVID-19) in golden Syrian hamster model: implications for disease pathogenesis and transmissibility[J/OL]. *Clin Infect Dis*, 2020:ciaa325(2020-03-26)[2020-05-08]. doi: 10.1093/cid/ciaa325.
- [21] Chan JF, Zhang AJ, Yuan S, et al. Pathogenesis and transmission of SARS-CoV-2 virus in golden hamsters[J/OL]. *Nature*, 2020(2020-05-14)[2020-05-20]. doi: 10.1038/s41586-020-2342-5.
- [22] Shi J, Wen Z, Zhong G, et al. Susceptibility of ferrets, cats, dogs, and different domestic animals to SARS-coronavirus-2[J/OL]. *Science*, 2020:eabb7015(2020-04-08)[2020-05-20]. doi:10.1126/science.abb7015.
- [23] Gong SR, Bao LL. The battle against SARS and MERS coronaviruses: reservoirs and animal models[J]. *Animal Model Exp Med*, 2018, 1(2):125-133.
- [24] Kim YI, Kim SG, Kim SM, et al. Infection and rapid transmission of SARS-CoV-2 in ferrets[J]. *Cell Host Microbe*, 2020, 27(5):704-709.
- [25] Park SJ, Kim YI, Park A, et al. Ferret animal model of severe fever with thrombocytopenia syndrome phlebovirus for human lethal infection and pathogenesis[J]. *Nat Microbiol*, 2019, 4(3):438-446.
- [26] de Wit E, Feldmann F, Cronin J, et al. Infection with novel coronavirus (SARS-CoV-2) causes pneumonia in the rhesus macaques[J]. *Proc Natl Acad Sci*, 2020, 117(12):6771-6776.
- [27] Yu P, Qi F, Xu Y, et al. Age-related rhesus macaque models of COVID-19[J]. *Anim Model Exp Med*, 2020, 3(1):93-97.
- [28] Yu J, Tostanoski LH, Peter L, et al. DNA vaccine protection against SARS-CoV-2 in rhesus macaques[J/OL]. *Science*, 2020:eabc6284(2020-05-20)[2020-05-25]. doi: 10.1126/science.abc6284.
- [29] Gao Q, Bao L, Mao H, et al. Development of an inactivated vaccine candidate for SARS-CoV-2[J/OL]. *Science*, 2020:eabc1932(2020-05-06)[2020-05-20]. doi: 10.1126/science.abc1932.
- [30] Rockx B, Kuiken T, Herfst S, et al. Comparative pathogenesis of COVID-19, MERS and SARS in a non-human primate model[J/OL]. *Science*, 2020:eabb7314(2020-04-17)[2020-05-20]. doi: 10.1126/science.abb7314.
- [31] Munster VJ, Feldmann F, Williamson BN, et al. Respiratory disease and virus shedding in rhesus macaques inoculated with SARS-CoV-2[J/OL]. *Nature*, 2020(2020-05-12)[2020-05-20] doi: 10.1038/s41586-020-2324-7.
- [32] Lu S, Zhao Y, Yu W, et al. Comparison of SARS-CoV-2 infections among 3 species of non-human primates[J/OL]. *bioRxiv*, 2020(2020-04-18)[2020-05-15]. doi: <https://doi.org/10.1101/2020.04.08.031807>.
- [33] Leonhard SE, Bresani-Salvi CC, Lyra Batista JD, et al. Guillain-Barré syndrome related to Zika virus infection: A systematic review and meta-analysis of the clinical and electrophysiological phenotype[J]. *PLoS Negl Trop Dis*, 2020, 14: e0008264.
- [34] Waickman AT, Gromowski GD, Rutvisuttinunt W, et al. Transcriptional and clonal characterization of B cell plasmablast diversity following primary and secondary natural DENV infection[J]. *EBioMedicine*, 2020, 54: 102733.
- [35] Weber E, Finsterbusch K, Lindquist R, et al. Type I interferon protects mice from fatal neurotropic infection with Langkat virus by systemic and local antiviral responses [J]. *J Virol*, 2014, 88:12202-12212.
- [36] Li H, Saucedo-Cuevas L, Regla-Nava JA, et al. Zika virus infects neural progenitors in the adult mouse brain and alters proliferation[J]. *Cell Stem Cell*, 2016, 19:593-598.

- [37] Smith DR, Hollidge B, Daye S, et al. Neuropathogenesis of Zika virus in a highly susceptible immunocompetent mouse model after antibody blockade of type I interferon[J]. *PLoS Negl Trop Dis*, 2017, 11:e0005296.
- [38] Weger-Lucarelli J, Duggal NK, Bullard-Feibelman K, et al. Development and characterization of recombinant virus generated from a new world Zika virus infectious clone[J]. *J Virol*, 2016, 91(1):e01765-16.
- [39] Tan GK, Ng JKW, Trasti SL, et al. A non mouse-adapted dengue virus strain as a new model of severe dengue infection in AG129 mice[J]. *PLoS Negl Trop Dis*, 2010, 4(4): e672.
- [40] Orozco S, Schmid MA, Parameswaran P, et al. Characterization of a model of lethal dengue virus 2 infection in C57BL/6 mice deficient in the alpha/beta interferon receptor[J]. *J Gen Virol*, 2012, 93:2152-2157.
- [41] Lazear HM, Govero J, Smith AM, et al. A mouse model of Zika Virus pathogenesis[J]. *Cell Host Microbe*, 2016, 19: 720-730.
- [42] Manangeeswaran M, Ireland DDC, Verthelyi D. Zika (PRVABC59) infection is associated with T cell infiltration and neurodegeneration in CNS of immunocompetent neonatal C57BL/6 mice[J]. *PLoS Pathog*, 2016, 12(11): e1006004.
- [43] Fernandes NCCA, Nogueira JS, Réssio RA, et al. Experimental Zika virus infection induces spinal cord injury and encephalitis in newborn Swiss mice[J]. *Exp Toxicol Pathol*, 2017, 69:63-71.
- [44] Zompi S, Harris E. Animal models of dengue virus infection [J]. *Viruses*, 2012, 4:62-82.
- [45] Huang KJ, Li SYJ, Chen SC, et al. Manifestation of thrombocytopenia in dengue-2-virus-infected mice[J]. *J Gen Virol*, 2000, 81:2177-2182.
- [46] Paes MV, Pinhão AT, Barreto DF, et al. Liver injury and viremia in mice infected with dengue-2 virus[J]. *Virology*, 2005, 338:236-246.
- [47] Runtuwene LR, Konishi E, Yamanaka A, et al. Dengue transmission model by means of viremic adult immunocompetent mouse[J]. *Parasit Vectors*, 2014, 7:143.
- [48] Aliota MT, Dudley DM, Newman CM, et al. Heterologous protection against Asian Zika virus challenge in rhesus macaques[J]. *PLoS Negl Trop Dis*, 2016, 10:e0005168.
- [49] Dudley DM, Aliota MT, Mohr EL, et al. A rhesus macaque model of Asian-lineage Zika virus infection[J]. *Nat Commun*, 2016, 7:12204.
- [50] Osuna CE, Lim SY, Deleage C, et al. Zika viral dynamics and shedding in rhesus and cynomolgus macaques[J]. *Nat Med*, 2016, 22:1448-1455.
- [51] Torner N, Soldevilaet N, Garcia JJ, et al. Effectiveness of non-pharmaceutical measures in preventing pediatric influenza: a case-control study[J]. *BMC Public Health*, 2015, 15:543.
- [52] Olsen B, Munster VJ, Wallensten A, et al. Global patterns of influenza a virus in wild birds[J]. *Science*, 2006, 312 (5772):384-388.
- [53] Krammer F, Palese P. Influenza virus hemagglutinin stalk-based antibodies and vaccines[J]. *Curr Opin Virol*, 2013, 3 (5):521-530.
- [54] Ozawa M, Kawaoka Y. Crosstalk between animal and human influenza viruses[J]. *Annu Rev Anim Biosci*, 2013, 1:21-42.
- [55] Meng Z, Han R, Hu Y, et al. Possible pandemic threat from new reassortment of influenza A(H7N9) virus in China [J]. *Euro Surveill*, 2014, 19(6):20699.
- [56] Smith W, Andrewes CH, Laidlaw PP. A virus obtained from influenza patients[J]. *Lancet*, 1933, 222:66-68.
- [57] Maines TR, Belser JA, Gustin KM, et al. Local innate immune responses and influenza virus transmission and virulence in ferrets[J]. *J Infect Dis*, 2012, 205(3):474-485.
- [58] MacInnes H, Zhou Y, Gouveia K, et al. Transmission of aerosolized seasonal H1N1 influenza A to ferrets[J]. *PLoS One*, 2011, 6(9):e24448.
- [59] Meunier I, Embury-Hyatt C, Stebner S, et al. Virulence differences of closely related pandemic 2009 H1N1 isolates correlate with increased inflammatory responses in ferrets[J]. *Virology*, 2012, 422(1):125-131.
- [60] Malakhov MP, Aschenbrenner LM, Smee DF, et al. Sialidase fusion protein as a novel broad-spectrum inhibitor of influenza virus infection[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2006, 50(4):1470-1479.
- [61] Van den Brand JM, Stittelaar KJ, van Amerongen G, et al. Comparison of temporal and spatial dynamics of seasonal H3N2, pandemic H1N1 and highly pathogenic avian influenza H5N1 virus infections in ferrets[J]. *PLoS One*, 2012, 7(8): e42343.
- [62] Xu Q, Chen Z, Cheng X, et al. Evaluation of live attenuated H7N3 and H7N7 vaccine viruses for their receptor binding preferences, immunogenicity in ferrets and cross reactivity to the novel H7N9 virus[J]. *PLoS One*, 2013, 8(10):e76884.
- [63] Belser JA, Gustin KM, Pearce MB, et al. Pathogenesis and transmission of avian influenza A (H7N9) virus in ferrets and mice[J]. *Nature*, 2013, 501(7468):556-559.
- [64] Huang SS, Banner D, Fang Y, et al. Comparative analyses of pandemic H1N1 and seasonal H1N1, H3N2, and influenza B infections depict distinct clinical pictures in ferrets[J]. *PLoS One*, 2011, 6(11):e27512.

- [65] O'Donnell CD, Subbarao K. The contribution of animal models to the understanding of the host range and virulence of influenza A viruses[J]. *Microbes Infect*, 2011, 13(5):502-515.
- [66] Bouvier NM. Animal models for influenza virus transmission studies: a historical perspective[J]. *Curr Opin Virol*, 2015, 13:101-108.
- [67] Brown EG, Liu H, Kit LC, et al. Pattern of mutation in the genome of influenza A virus on adaptation to increased virulence in the mouse lung: identification of functional themes[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2001, 98:6883-6888.
- [68] Grimm D, Staeheli P, Hufbauer M, et al. Replication fitness determines high virulence of influenza A virus in mice carrying functional Mx1 resistance gene[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2007, 104:6806-6811.
- [69] Bouvier NM, Lowen AC. Animal models for influenza virus pathogenesis and transmission[J]. *Viruses*, 2010, 2(8):1530-1563.
- [70] Pica N, Chou YY, Bouvier NM, et al. Transmission of influenza B viruses in the guinea pig[J]. *J Virol*, 2012, 86:4279-4287.
- [71] Lowen AC, Mubareka S, Tumpey TM, et al. The guinea pig as a transmission model for human influenza viruses[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103(26):9988-9992.
- [72] Seibert CW, Rahmat S, Krause JC, et al. Recombinant IgA is sufficient to prevent influenza virus transmission in guinea pigs[J]. *J Virol*, 2013, 87(14):7793-7804.
- [73] Daniels MJ, Selgrade MK, Doerfler D, et al. Kinetic profile of influenza virus infection in three rat strains[J]. *Comp Med*, 2003, 53(3):293-298.
- [74] Ottolini MG, Blanco JC, Eichelberger MC, et al. The cotton rat provides a useful small-animal model for the study of influenza virus pathogenesis[J]. *J Gen Virol*, 2005, 86:2823-2830.
- [75] Ma W, Lager KM, Vincent AL, et al. The role of swine in the generation of novel influenza viruses[J]. *Zoonoses Public Health*, 2009, 56:326-337.
- [76] Lipatov AS, Kwon YK, Sarmiento LV, et al. Domestic pigs have low susceptibility to H5N1 highly pathogenic avian influenza viruses[J]. *PLoS Pathog*, 2008, 4(7):e1000102.
- [77] van der Vries E, Stittelaar KJ, van Amerongen G, et al. Prolonged influenza virus shedding and emergence of antiviral resistance in immunocompromised patients and ferrets[J]. *PLoS Pathog*, 2013, 9(5):e1003343.
- [78] Karlsson EA, Engel GA, Feeroz MM, et al. Influenza virus infection in nonhuman primates[J]. *Emerg Infect Dis*, 2012, 18(10):1672-1675.
- [79] Carroll TD, Matzinger SR, Genesca M, et al. Interferon-induced expression of MxA in the respiratory tract of rhesus macaques is suppressed by influenza virus replication[J]. *J Immunol*, 2008, 180(4):2385-2395.
- [80] Rimmelzwaan GF, Baars M, van Amerongen G, et al. A single dose of an ISCOM influenza vaccine induces long-lasting protective immunity against homologous challenge infection but fails to protect Cynomolgus macaques against distant drift variants of influenza A (H3N2) viruses[J]. *Vaccine*, 2001, 20:158-163.
- [81] 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.
- [82] Baskin CR, Bielefeldt-Ohmann H, Tumpey TM, et al. Early and sustained innate immune response defines pathology and death in nonhuman primates infected by highly pathogenic influenza virus[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106(9):3455-3460.
- [83] Watanabe T, Kiso M, Fukuyama S, et al. Characterization of H7N9 influenza A viruses isolated from humans[J]. *Nature*, 2013, 501(7468):551-555.
- [84] Giese M, Harder TC, Teifke JP, et al. Experimental infection and natural contact exposure of dogs with avian influenza virus (H5N1)[J]. *Emerg Infect Dis*, 2008, 14(2):308-310.
- [85] Taubenberger JK, Kash JC. Influenza virus evolution, host adaptation and pandemic formation[J]. *Cell Host Microbe*, 2010, 7(6):440-451.
- [86] Jourdain E, Gunnarsson G, Wahlgren J, et al. Influenza virus in a natural host, the Mallard: Experimental infection data[J]. *PLoS One*, 2010, 5(1):e8935.
- [87] Munster VJ, Schrauwen EJ, de Wit E, et al. Insertion of a multibasic cleavage motif into the hemagglutinin of a low-pathogenic avian influenza H6N1 virus induces a highly pathogenic phenotype[J]. *J Virol*, 2010, 84(16):7953-7960.
- [88] Latorre-Margalef N, Gunnarsson G, Munster VJ, et al. Effects of influenza A virus infection on migrating mallard ducks[J]. *Proc Biol Sci*, 2009, 276(1659):1029-1036.

A Brief Review on Development and Application of Animal Models of Emerging Infectious Diseases Caused by Three Genus Viruses

LI Feng, LI Shun, REN Xiaonan, ZHOU Xiaohui

(1. Animal Model Department, Shanghai Public Health Clinical Center,

Fudan University, Shanghai 201508, China;

2. Shanghai Emerging and Reemerging Infectious

Disease Institute, Shanghai 201508, China)

[Abstract] Animal models are key foundation for the research on the pathogenesis of emerging infectious diseases and the development of targeted vaccines and drugs, which play an irreplaceable role in deepening the scientific understanding of new infectious diseases and developing the effective prevention and control measures. In this paper, three kinds of emerging viral infectious pathogens (coronavirus, flavivirus and influenza virus) which are seriously harmful to human life and health in recent years are reviewed. The construction and application of the corresponding experimental animal models are briefly described, and their pros and cons are compared, so as to provide a reference for selecting the appropriate animal models for the further research on pathogenicity mechanism and the studies on vaccines and drugs against those emerging viruses.

[Key words] Coronavirus; Flavivirus; Influenza virus; Infected animal models