



树鼩病毒感染模型的研究新进展*

张飞燕^{1,2)} 肖文娟³⁾ 马玉华^{1,2)} 郭继文^{1,2)} 赵玲^{1,2)} 谢丽分^{1,2)} 王芸^{1,2)}李乙江^{1,2)} 陈佳琦^{1,2)} 吕龙宝^{1,2,3)**}

(1) 中国科学院昆明动物研究所, 昆明 650000; (2) 国家非人灵长类实验动物资源库, 昆明 650000; (3) 中国科学院大学, 北京 100049)

摘要 病毒感染引起的疾病接近中国主要传染病发病率的一半, 也是传染病致死的主要病因。建立与人类亲缘关系较近、方便有效的感染人类病毒的动物模型, 对了解病毒的生物学特性、感染致病机理及制定有效防控措施具有重要意义。树鼩作为灵长类动物的近亲, 与人类在生理生化、基因组学等方面的相似性远高于大鼠、小鼠等常用啮齿类实验动物, 并具有个体小、便于实验操作、饲养成本低、能感染多种人类病毒等特点, 作为动物模型在病毒感染性疾病研究中突显优势和潜能。本文从地区分布、进化、生物学特性等方面, 阐述了树鼩作为动物模型应用于病毒感染性疾病研究的优势, 包括在乙型肝炎病毒、甲型肝炎病毒, 及其他病毒感染疾病研究中的进展。

关键词 树鼩, 感染, 动物模型, 肝炎病毒, 呼吸病毒, 虫媒病毒
中图分类号 Q95, R51

DOI: 10.16476/j.pibb.2022.0133



树鼩 (tree shrew, *Tupaia belangeri*), 在生理解剖、神经发育、肝炎病毒感染特性及心理应激模式等方面与灵长类, 甚至人类高度相似, 具有体型小、饲养成本低及繁殖周期短等特点, 可应用于人类医学研究的诸多领域, 尤其是作为病毒性肝炎研究的动物模型具有独特优势, 同时, 树鼩拥有哺乳动物中最大的脑-体重比, 是研究脑功能和神经退行性疾病的理想模型。

病毒感染是对公共卫生的主要威胁, 在全世界造成数百万人死亡, 严重威胁人类健康。建立模拟人类疾病的动物模型对研究病毒感染和发病机制及制定有效防控措施具有重要的意义。基因组数据表明, 树鼩 (*Tupaia belangeri*, tree shrew) 更接近灵长类动物, 与人类相似。其神经功能障碍、感染性疾病等多个系统的关键因子和信号通路与人类有保守和独特的特征^[1]。且树鼩具有体型小、饲养成本低及繁殖周期短等显著特点, 被替代灵长类应用于人类医学实验研究的诸多领域, 尤其树鼩对许多病毒感染特性与人类相似, 如感染人类的甲、乙、丙、丁型肝炎病毒、轮状病毒、疱疹病毒、腺病毒、副黏病毒等^[2]。以丙型肝炎为例, 目前感染该病毒的动物只有黑猩猩和树鼩。黑猩猩属于高濒危的灵长类动物, 价格昂贵且十分稀少, 所以采用黑猩猩作为动物模型大规模开展丙型肝炎病毒研究不可行。在人类病毒感染性疾病研究中, 已广泛应用的

啮齿类动物模型存在疾病模拟性不足和研究成果转化低的缺点。因而, 树鼩作为中国自主培育的特色实验动物, 在推进病毒发病机制和疾病研究方面成为一种潜在的小动物模型^[3-4]。目前, 树鼩已被用作几种重要的人类病毒病原体的感染模型 (图1)。本文介绍近几年关于人类感染病毒的树鼩感染模型, 包括乙型肝炎病毒 (hepatitis B virus, HBV)、丙型肝炎病毒 (hepatitis C virus, HCV)、流感病毒、严重急性呼吸系统综合征冠状病毒2 (SARS-CoV-2)、寨卡病毒 (Zika virus, ZIKV) 和登革病毒 (Dengue virus, DENV) 树鼩感染模型的国内外研究进展, 以增强对该领域的深入了解。

* 国家非人灵长类实验动物资源库资助项目。

** 通讯联系人。

Tel: 0871-5196202, E-mail: lvlongbao@mail.kiz.ac.cn

收稿日期: 2022-04-02, 接受日期: 2022-04-29

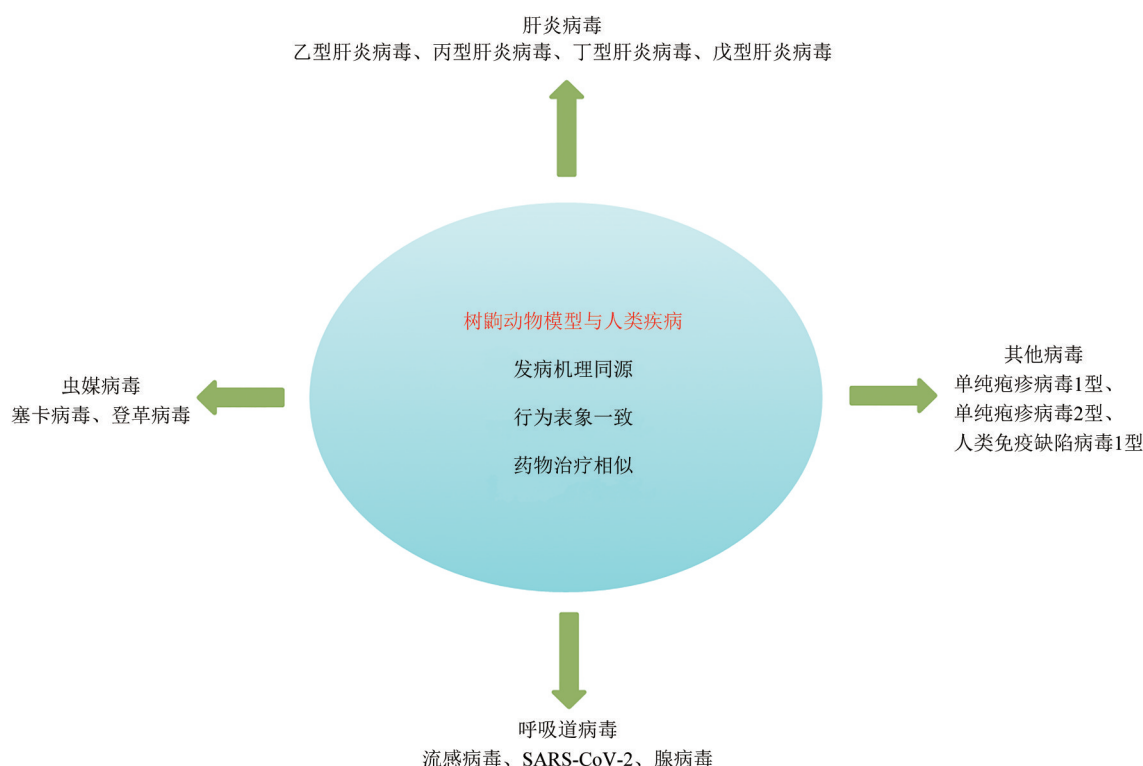


Fig. 1 Tree shrew model of human infectious disease

图1 人类传染病树鼯模型

1 树鼯作为病毒感染性疾病动物模型的生物学优势

1.1 树鼯分布及进化地位

树鼯为外形类似于松鼠的一类小型哺乳动物。在医学界,“树鼯”一词指的是北方树鼯(*Tupaia belangeri*)或中国树鼯(*T. belangeri chinensis*),属于攀鼯目,该目包含树鼯科(Tupauidae)和笔尾树鼯科(Ptilocercidae)2个科,主要分布于东南亚、南亚地区,也是中国西南部地区分布的唯一现生树鼯。根据外部毛色及形态特征将中国的现生树鼯分为6个亚种,即滇西亚种、高黎贡山亚种、滇南亚种、海南亚种、越北亚种和瑶山亚种^[5]。基于树鼯全基因组数据构建的系统发育树、估算与灵长目动物的分歧时间,都支持树鼯与灵长类的亲缘关系最近^[6]。最新研究通过对包括人类、猕猴、树鼯和小鼠4种哺乳动物的组织转录组相似度比较发现,相较于小鼠,树鼯与灵长类动物更为接近。同时发现,在阿尔茨海默病、帕金森病等疾病的13个信号通路中,树鼯相关基因与人类同源基因的相似度均高于小鼠相关基因与人类同源基因的相

似度,这些基因在大脑中的表达模式也与人类更为接近,说明树鼯比小鼠更适合作为上述疾病的动物模型^[7]。这种树鼯与灵长类动物之间亲缘关系的确立,以及最新发布的第三版树鼯基因组的注释(KIZ version 3: TS_3.0),不仅实现了树鼯基因组数据的自由访问和共享,还很好地促进了树鼯研究领域的发展,更重要的是为树鼯作为一类具有潜在应用价值的新型模式动物奠定了遗传基础。

1.2 树鼯生物学和生理学特性

树鼯体型小,外形类似于松鼠,吻尖细,5趾具爪(4趾与大趾相对),体毛灰、栗色,腹毛为灰白或灰黄色,尾毛蓬松,成年体重120~190 g,体长14~22 cm,尾12~20 cm,乳头1~3对,齿式3132/3133,大脑、小脑和前额叶发达,体成熟6月龄,妊娠期41~45 d,1~5仔/胎,8~10 g/仔,2~3胎/年,哺乳期35~42 d,寿命8~12年^[2]。

树鼯与人类在生理生化、基因组学等方面的相似性远高于大鼠、小鼠等常用啮齿类实验动物,并与灵长类动物相比具有体型小、繁殖快、易操作和成本低,遗传和生理生化特征接近灵长类的优点,在很多方面可代替灵长类进行生物医学实验,可避

免大量的动物伦理问题和节约大量成本, 同时树鼩能感染多种与人类疾病有关的病毒, 可发展为较为理想的病毒感染动物模型。

2 乙型和丙型肝炎病毒树鼩感染模型

2.1 乙型肝炎病毒 (HBV) 树鼩感染模型的研究

HBV 在全球范围内感染了 20 亿人, 可导致慢性肝炎、肝硬化和肝细胞癌^[8]。尽管高效的疫苗在过去 30 年被广泛地采用, 但乙型肝炎仍是全球十大导致死亡的疾病之一, 是一个主要的全球公共卫生问题^[9]。HBV 的宿主范围非常有限, 以前黑猩猩 (*Pan troglodytes*) 被用作唯一的自然感染模型^[10]。然而, 由于高昂的费用以及伦理和动物福利问题, 限制了它在人类感染模型中的应用, 亟需建立一种合适的 HBV 动物模型。树鼩已被报道易受 HBV 感染, 但其感染效率很低, 并只能短暂携带该病毒^[11-12]。但通过对 HBV 病毒的改造以及调节树鼩抗 HBV 免疫系统等措施, 相信能提高 HBV 感染树鼩的效率。研究发现, HBV 和黄曲霉素 B1 协同作用可诱发树鼩肝癌发生。当用 HBV 感染树鼩, 并在其饮食中添加黄曲霉素 B1, HBV 慢性感染能够在 160 周诱导肝癌的发生^[13], 其肝癌发生率为 52.9%, 而单独感染 HBV 或单独接触黄曲霉素 B1 的树鼩感染率分别为 11.1% 和 12.5%, 显著低于 HBV 和黄曲霉素 B1 协同作用诱导的肝癌发病率^[11]。树鼩已被建模用于急性和慢性 HBV 感染^[14-16]。Kayesh 等^[14] 研究发现, 由于 HBV 基因型的差异, 复制效率也存在差异, 其中 HBV-A2 的增殖效率高于 HBV-c, 但病毒的整体滴度非常低, 不能排除动物高遗传变异对 HBV 基因型复制效率的影响。目前已知的 8 种 HBV 基因型 (A~H)^[17], 其特征是 HBV 基因组核苷酸序列差异大于 8%, 在树鼩模型中, 这些已知 HBV 基因型的特征还未完全阐明^[18]。在新生期接种 HBV 的树鼩表现出慢性感染的趋势, 与人类感染时观察到的肝脏组织病理变化相似^[19-20], 表明新生树鼩接种人 HBV 后, 病毒能够在体内长期存在和稳定复制。此外, 原代肝细胞被广泛应用于 HBV 的感染研究, 这为了解 HBV 的发病机制提供了进一步的了解依据^[21-22], 也说明体外分离和培养的肝细胞对肝脏疾病发病机制的研究具有重要价值。同时, 利用原代肝细胞为靶细胞, 利用零距离光交联技术及蛋白质组学技术, 成功鉴定出 HBV 受体——牛磺胆酸钠共转运

多肽 (sodium taurocholate cotransport polypeptide, NTCP), 并发现 NTCP 是能与 HBVpre-S1 特异性结合的蛋白质^[23]。有研究发现, 通过将树鼩原代肝细胞移植到尿激酶型纤溶酶原激活剂转基因小鼠, 移植后的肝细胞能支持 HBV 复制。另外也有研究克隆表达树鼩的肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α), 并检测其对树鼩原代肝细胞的抗病毒活性, 发现 TNF- α 具有抑制 HBV 复制的作用^[24]。以上研究都证实树鼩对 HBV 易感, 可作为 HBV 感染的新型动物模型。

2.2 丙型肝炎病毒 (HCV) 树鼩感染模型的研究

HCV 是一个重大的全球健康问题, 全世界约有 1.3~1.7 亿人感染这种病毒, 并导致慢性肝病、肝硬化和肝细胞癌^[24]。与乙型肝炎病毒相似, 丙肝病毒的宿主范围也很窄, 目前发现黑猩猩和人类是其唯一的天然宿主^[25]。缺乏合适的小动物模型是 HCV 研究领域的一个重大障碍。迄今为止, 许多研究报道, HCV 的树鼩体内感染和体外感染模型在研究 HCV 复制、发病机制和抗病毒干预方面都发挥重要作用^[26]。众多研究显示, 树鼩能自然感染 HCV, 但整体上 HCV 复制水平较低, 极少形成持续性感染^[27-29], 这提示与人类相比, 树鼩存在 HCV 限制性复制的缺点。值得注意的是, Amako 等^[27] 的研究表明, 用来自丙型肝炎患者的 HCV 或者从 cDNA 得到的 HCV 病毒粒子感染树鼩, 并进行了为期 3 年的观察, 发现树鼩首先发生急性感染, 表现出轻微的炎症及病毒血症, 随后逐渐发展形成脂肪肝变性、肝硬化和肝癌。此外, 被感染树鼩的血清可以重新感染新的树鼩, 不仅证明了 HCV 能够体内感染树鼩并表现出人类感染 HCV 的症状, 还说明 HCV 可以在该动物模型中进行有效的复制和传播。Xu 等^[30] 用 4 种 HCV 基因型 (1b、2c、3b 和 6) 的人血清和 HCV 转染细胞的培养上清同时接种树鼩, 结果显示, 不同的 HCV 基因型和不同接种方式对感染率没有明显影响, 只要 HCV 人血清或 HCV 转染细胞的培养上清中单一基因型 HCV 含量足够高, 树鼩在非免疫抑制状态下即可被有效感染。研究发现, HCV 感染可诱导固有免疫应答, Toll 样受体 (Toll-like receptors, TLR) 在 HCV 发病机制中具有重要的作用^[26], 提示树鼩可以作为一种潜在的免疫应答和发病机制研究模型。与 HCV 相关的树鼩基因组学研究发现, 在人体中共有 163 个基因参与 HBV 和 HCV 应答,

其中大部分基因都能在树鼩中找到对应的基因，并有很高的序列同源性^[31]，也说明树鼩可作为HCV感染的合适模型。

3 树鼩呼吸道病毒感染模型

3.1 严重急性呼吸系统综合征冠状病毒2 (SARS-CoV-2)

SARS-CoV-2是新型冠状病毒肺炎 (COVID-19) 的致病因子，在全球传播，导致数百万人死亡^[32-33]。SARS-CoV-2属于冠状病毒科 β 冠状病毒属，而SARS-CoV-2是第三种涉及动物向人类传播的冠状病毒^[34]。SARS-CoV-2的致病机制复杂，对其了解甚少。为了进一步了解SARS-CoV-2的致病机制和宿主反应，建立了不同的动物模型，包括小鼠模型、叙利亚仓鼠模型、雪貂模型、非人灵长类动物模型，以及包括水貂、猫、狗、猪、鸡、鸭和果蝠在内的其他动物模型^[35]。合适的动物模型对于有针对性的预防和治疗至关重要。为了建立有效的SARS-CoV-2感染模型，了解感染致病机理，筛选有效的预防或治疗方法，姚永刚团队^[36]利用树鼩开展新冠病毒感染模型的创建，他们选择1岁左右的成年树鼩和5~6岁的老年树鼩，感染SARS-CoV-2。研究表明，树鼩可以通过点眼滴鼻和喉头注入等多种途径感染新冠病毒，肺部影像学、病毒载量、血常规和生化及组织病理学等分析表明，树鼩可以感染SARS-CoV-2病毒。X射线检查可以在大多数感染树鼩看到肺部浸润影像。该研究提示，树鼩有可能成为SARS-CoV-2致病机制研究、药物和疫苗评价的模型动物。然而，这项研究同时发现，老年树鼩（5~6岁）比成年树鼩（1~2岁）更不容易感染SARS-CoV-2，这与报告的人类病例不一致，老年人比年轻人更容易感染SARS-CoV-2。另一项研究显示，接种了SARS-CoV-2的树鼩体温升高，尤其是雌性动物，但未观察到临床症状。树鼩模型中SARS-CoV-2感染的研究结果不一致，可能是由于其具有较高的遗传变异^[37]。然而，不能排除树鼩作为无症状携带者的可能性，这需要进一步研究。

3.2 流感病毒

流感病毒是一种急性的高传染性病毒，如甲型H1N1流感病毒、H7N9流感病毒等，可随季节性暴发流行，给人类的健康和财产带来了很大的危害。先前已有小鼠、雪貂和猕猴被用来了解禽流感

病毒感染在人类的致病机制。雪貂虽敏感，却不易获得；而小鼠必须连续传代方可适应。早在2013年Yang等^[38]用流感病毒H1N1接种树鼩，通过分析体温变化、血清转化率，及肺组织和气管组织病理学发现，感染后的树鼩表现出轻度或中度的呼吸道症状，并在树鼩的上呼吸道检测到H1N1的复制。介导H1N1进入的唾液酸 (sialic acid, SA) α 2,6-Gal受体广泛分布于树鼩的气管和鼻黏膜，而SA α 2,3-Gal受体则主要分布于树鼩肺组织。Li等^[39]报道，树鼩具有与人类相似的SA α 2,3-Gal和SA α 2,6-Gal受体分布，是禽流感研究中一种可行的新的体内实验模型，并与雪貂感染甲型禽流感 (H9N2) 病毒具有相似的致病性，在病理、免疫均显示了良好的行为表象一致性和发病机制同源性。Sanada等^[40]将H5N1和H7N9禽流感病毒接种至树鼩，并对其致病性进行评估，发现H5N1型流感病毒感染引起严重弥漫性肺炎，伴有发热和体重减轻。相比之下，H7N9流感病毒感染可引起局灶性肺炎。肺炎的严重程度与促炎细胞因子转录水平相关。这些结果表明，树鼩可以作为禽流感病毒研究的另一种合适的动物模型。Xu等^[41]对甲型H1N1流感病毒 (A/四川/1/2009, pdmH1N1)、禽源H5N1病毒 (A/鸡源/甘肃/2/2012, H5N1) 和早期人类源H7N9病毒 (A/苏州/SZ19/2014, H7N9) 感染树鼩的传染性和传播性进行了评价，发现其在树鼩中都表现出高效复制和亚临床症状。在接种病毒的树鼩上产生了强烈的体液免疫反应，并保护其免受同源病毒的攻击。Yuan等^[42]经鼻内接种B型流感病毒感染树鼩，感染的树鼩表现出流鼻涕和体重减轻的临床症状。并且树鼩组织中IL-6、IL-10、IP-10、TNF- α 、TGF- β mRNA水平升高，研究结果表明树鼩在流感病毒研究中的适用性。上述研究结果为树鼩作为流感病毒研究的实验模型提供了良好的佐证。另外，由于树鼩相对较小的体型，与灵长类动物更接近的进化地位，以及与雪貂相比更低的使用成本，其在应用中还具有独特的优势。

4 树鼩虫媒病毒感染模型

4.1 寨卡病毒 (ZIKV)

ZIKV感染是全球重大公共卫生问题，寨卡疫情被世界卫生组织宣布为“国际关注的突发公共卫生事件”^[43]。ZIKV主要通过蚊子叮咬传播，但它也可通过被感染的精液进行性传播。目前尚无预防

或治疗 ZIKV 感染的疫苗或抗病毒药物。正确理解 ZIKV 的发病机制和宿主与病毒的相互作用对疫苗和抗病毒药物的开发至关重要。目前, 利用包括小鼠、豚鼠和灵长类动物在内的几种动物模型, 在了解 ZIKV 的致病机制和宿主反应方面取得了很大进展。然而, 每种模型都有其局限性, 其中小鼠感染模型与人类感染症状差异较大; 灵长类动物感染后未能重现与人类感染后的主要临床症状, 且研究成本高、周期长。特别是, 在这些动物模型中很少重现皮肤症状^[44]。因此, 需要开发一种新的能模拟人类自然感染 ZIKV 及感染后表现出临床症状的动物模型。Zhang 等^[45]的研究表明, 树鼩皮下接种 ZIKV 会产生短暂的病毒血症, 出现典型的皮肤症状, 表现为躯干大面积弥漫性皮疹, 与人类 ZIKV 感染者表现的症状相似。然而, 没有引起发烧或其他神经和行为异常。值得注意的是, 成年树鼩感染 ZIKV 后产生的抗体反应可防止同源病毒再次感染, 表明树鼩模型可用于疫苗筛选。Zhang 等^[46]研究证实了树鼩感染 ZIKV 的体外组织趋向性, 结果表明, 树鼩肾、肺、肝、皮肤和主动脉的原代细胞对 ZIKV 的感染具有易感性, 并能支持病毒的复制。这些发现为树鼩作为 ZIKV 感染的动物模型提供了强有力的证据。

4.2 登革病毒 (DENV)

DENV 属于黄病毒科 (Flaviviridae) 黄病毒属 (Flavivirus), 有 4 个血清型: DENV-1、DENV-2、DENV-3 和 DENV-4, 主要通过埃及伊蚊和白纹伊蚊等昆虫媒介传播, 给人类的生命健康造成了严重的威胁^[47]。目前尚无有效的抗 DENV 药物和疫苗用于临床治疗和预防, 并且仍缺乏一种适用于模拟人类 DENV 感染的小型动物模型。Kayesh 等^[48]研究发现, 树鼩的成纤维细胞对 DENV 的 4 种血清型感染都具有易感性, 在 DENV 感染的成纤维细胞中也观察到 TLR8 和 IL-8 mRNA 表达上调。Jiang 等^[49]通过尾静脉或皮下注射低剂量的 DENV, 约 22% 的树鼩在感染的 3~22 d 内表现出与人相似的登革热症状, 感染 DENV 的树鼩出现体温升高。在感染后 45 d 仍然能够在脑部检测到病毒。研究结果表明, 树鼩感染 DENV 表现出与人类相似的临床症状, 因此树鼩可能是研究登革热发病机制的合适模型。值得注意的是, 在所报告的树鼩感染登革热的模型中, 未出现类似于人类严重登革热的临床表现。因此, 为了扩展树鼩登革热模型的应用, 还需要进一步深入的研究。

5 其他病毒树鼩感染模型的研究

5.1 疱疹病毒 (herpes simplex virus, HSV)

HSV 是人类最常见的病原体, 世界上超过 80% 的人都感染过 HSV, 一旦感染则终身潜伏。HSV 属于疱疹病毒科, 有 HSV 1 型 (HSV-1) 和 HSV 2 型 (HSV-2) 两种^[50]。HSV-1 主要感染口腔、咽、面部、眼睛和中枢神经系统, HSV-2 主要感染肛门或生殖器区域^[51]。周巨民团队^[52-53]系统地开展 HSV-1 在树鼩眼睛的感染、潜伏和重激活研究, 发现树鼩的角膜结构和人角膜结构非常类似, 树鼩模型能更好地模拟人的疱疹病毒性角膜炎症状, 有利于进一步研究疾病的发生、发展和复发过程, 以及病毒潜伏及再激活机制。该模型可为病毒性角膜炎临床治疗和筛选抗病毒药提供理想的动物模型。此外, 该研究团队还发现 HSV-1 可潜伏感染树鼩的中枢神经系统^[53]。Darai 等^[54]对幼龄 (28~45 日龄) 和成年 (150 日龄) 树鼩静脉注射、腹腔注射或皮下注射 HSV-1 和 HSV-2, 注射剂量为每只动物 25×10^5 pfu, 结果表明, HSV 感染导致幼年树鼩出现死亡, HSV-1 和 HSV-2 在幼年树鼩身上具有高致病性, 成年树鼩未发现临床症状和检测出 HSV 病毒。Wang 等^[55]研究发现树鼩与人具有更相似 HSV-1 感染特征的证据, HSV-1 潜伏感染的树鼩和人的三叉神经节中都有 ICP0 转录, 且在 ICP0 和 LAT 的编码区有一个非常相似的转录峰, 而在小鼠神经节中, 只有 LAT 区被转录。以上结果说明, 在人类中观察到的 HSV-1 相关疾病表现, 如潜伏感染和再激活, 也能在树鼩中观察到, 这突出了 HSV-1 感染的树鼩模型的适用性。

5.2 人类免疫缺陷病毒 1 型 (HIV-1)

功能性受体及宿主限制因子是限制病毒跨种传播和能否构建 HIV-1 感染动物模型的关键因素, 建立 HIV-1 感染动物模型是亟待解决的重要科学问题。目前基本上用猴免疫缺陷病毒 (simian immunodeficiency virus, SIV) 和猴/人免疫缺陷嵌合病毒 (simian/human immunodeficiency virus, SHIV) 感染灵长类动物模型开展艾滋病发病机制、药物和疫苗研究。但是 SIV 与 HIV-1 的基因组只有 40% 左右的同源性, 不能完全模拟人感染 HIV-1 后的免疫反应过程。并且灵长类动物模型的应用存在资源、伦理限制以及成本过高等问题。因此, 构建小型动物模型是 HIV-1 模型研究的重要目标。最近郑永唐团队^[56]的一项研究发现, 树鼩原代细胞能

够支持 VSV-G 包膜 HIV-1 假病毒的感染及复制, 但 HIV-1 野生型病毒却不能自然感染树鼩细胞, 提示树鼩细胞缺乏 HIV-1 功能性受体。当转染人 HIV-1 受体 CD4 和 CCR5, 甚至仅给予 CD4 后, 树鼩细胞能够支持 HIV-1 的自然感染, 证明 CD4 功能性受体是限制 HIV-1 感染树鼩细胞的主要因素。并发现树鼩 APOBEC3 能够有效限制 HIV-1 复制, 包括抑制 HIV-1 逆转录过程以及在病毒基因组上参入 G-A 或 C-T 的超突变, 其中 A3Z2c-Z1b 的活性最强^[56]。以上研究表明, HIV-1 感染树鼩主要受到功能性受体 CD4、宿主限制因子 APOBEC3 的限制, 对树鼩进行合适的基因改造, 有望构建树鼩 HIV-1 动物模型。

6 问题与展望

动物模型的建立对于研究病毒感染的发病机制, 以及评价药物和疫苗的有效性至关重要。一个理想的病毒体内感染模型, 要能够用于自然状态下病毒感染、病毒和宿主细胞间的相互作用及机体感染病毒后的免疫应答情况等研究。但目前建立的大多数动物模型只能用于其中一部分研究。这些动物模型中最接近人类感染状态的是黑猩猩。尽管黑猩猩是很多病毒 (如 HBV、HCV、HIV 等) 的自然感染宿主, 但因其濒临物种灭绝, 实验费用昂贵等原因不适用于普通实验研究。

第三版树鼩基因组注释最新发布, 树鼩与人类在生理机能、生化代谢和基因组学等方面的相似性远高于大鼠、小鼠、犬等实验动物^[57-58], 是灵长类的近亲, 并具有繁殖快、体型小、便于实验操作, 树鼩的 HBV 和 HCV 受体与人同源性高, 具有与人类相似的 SAα2, 3-Gal 和 SAα2, 6-Gal 受体分布, 尤其是关键结合位点高度一致, 并可介导病毒感染, 这些因素都将树鼩进一步开发成为研究人类感染性疾病的新型实验动物奠定了良好的基础。

然而, 树鼩作为病毒感染模型应用尚存在一些有待解决的问题。首先, 树鼩实验动物模型的应用, 需要建立在清晰的遗传背景及稳定的遗传成分等基础之上, 而迄今为止仍未建立树鼩纯种品系, 且病毒携带、生理生化、遗传背景等相关的基础生物学和重要的生物学特性数据仍然比较缺乏, 是树鼩在人类感染性疾病研究应用中的一个瓶颈。目前, 中国科学院昆明动物研究所正在开展树鼩近交品系的创制工作, 并取得较大进展, 树鼩近交品系创制一旦成功, 树鼩将会在人类重大感染性疾病研

究领域发挥极大的作用。并且, 2016 年昆明动物研究所树鼩基因修饰技术获得重大突破, 获得了转基因树鼩^[59], 为树鼩转基因品系的建立打下良好基础, 也将进一步促进树鼩在生物医学研究, 包括在病毒感染方面的广泛应用, 对了解病毒的生物学特性、感染致病机理及制定有效防控措施具有重要的价值, 对于提升中国在病毒学及实验动物研究领域的国际地位具有重要的战略意义。其次, 缺乏可用于树鼩研究的相关试剂, 使得基于树鼩的动物模型研究工作缺少深度和广度, 中国也正在并试图研发树鼩专有的特异性检测试剂盒^[60]。另外, 在运用树鼩实验中涉及绝大多数生理指标的测定都需要抓捕、固定、麻醉甚至处死动物来实现测量或取材来获得数据, 树鼩是一种活动性极强和擅长跳跃攀爬的动物, 抓捕应激较大, 而且树鼩心理应激也高度敏感, 过长的惊吓本身会导致各项生理学、内分泌学指标发生较大改变。若是处死动物取材的话, 各器官无论宏观上或者微观 (细胞, 甚至分子层面) 水平上也会造成较大改变。随着核磁共振成像技术、正电子发射计算机断层扫描等设备技术的应用, 将会使得保证动物模型活体, 甚至无痛、无创获得更为客观真实的生理学指标成为可能。最后, 目前研究表明, 树鼩体内的病毒感染滴度总体较低, 这也是未来研究的一个挑战, 但随着分子生物学、免疫学、病毒学、基因工程技术及细胞培养技术的发展, 通过对病毒的改造, 使之能适应树鼩, 以及建立转基因树鼩品系, 树鼩有望发展成为合适病毒性感染的动物模型, 为这些疾病感染与致病机制研究、药物与疫苗研发提供有效支撑。

参 考 文 献

- [1] Zhao S, Zheng P, Dong S, *et al.* Whole-genome sequencing of giant pandas provides insights into demographic history and local adaptation. *Nat Genet*, 2013, **45**(1):67-71
- [2] 徐林, 张云, 梁斌, 等. 实验动物树鼩和人类疾病的树鼩模型研究概述. *动物学研究*, 2013, **34**(2):59-69
Xu L, Zhang Y, Liang B, *et al.* *Zool Res*, 2013, **34**(2):59-69
- [3] Tsukiyama-Kohara K, Kohara M. *Tupaia belangeri* as an experimental animal model for viral infection. *Exp Anim*, 2014, **63**:367-374
- [4] Kayesh M, Hashem MA, Kitab B, *et al.* Pathogenesis and immune response caused by vector-borne and other viral infections in a tupaia model. *Microorganisms*, 2019, **7**(12):686
- [5] 王应祥. 中国树鼩的分类研究. *动物学研究*, 1987(3):8-25
Wang X Y. *Zool Res*, 1987(3):8-25
- [6] Fan Y, Huang Z Y, Cao C C, *et al.* Genome of the Chinese tree

- shrew. Nat Commun, 2013, **4**:126
- [7] Ye M S, Zhang J Y, Yu D D, *et al.* Comprehensive annotation of the Chinese tree shrew genome by large-scale RNA sequencing and long-read isoform sequencing. Zool Res, 2021, **42**(6):692-709
- [8] Shepard C W, Simard E P, Finelli L, *et al.* Hepatitis B virus infection: epidemiology and vaccination. Epidemiol Rev, 2006, **28**(1):112-25
- [9] Lee W M. Hepatitis B Virus Infection. New Engl J Med. 1997, **337**:1733-1745
- [10] Xu G, Gao Z, He W, *et al.* MicroRNA expression in hepatitis B virus infected primary tree shrew hepatocytes and the independence of intracellular miR-122 level for *de novo* HBV infection in culture. Virology, 2014, **448**:247-254
- [11] Yan R Q, Su J J, Huang D R, *et al.* Human hepatitis B virus and hepatocellular carcinoma I. Experimental infection of tree shrews with hepatitis B virus. J Cancer Res Clin, 1996, **122**(5):283-288
- [12] Walter E, Keist R, Niederöst B, *et al.* Hepatitis B virus infection of tupaia hepatocytes *in vitro* and *in vivo*. Hepatology, 1996, **24**(1):1-5
- [13] Li Y, Su J J, Qin L L, *et al.* Synergistic effect of hepatitis B virus and aflatoxin B1 in hepatocarcinogenesis in three shrews. Ann Acad Med Singap, 1999, **28**(1):67-71
- [14] Kayesh M E H, Ezzikouri S, Chi H, *et al.* Interferon- β response is impaired by hepatitis B virus infection in *Tupaia belangeri*. Virus Res, 2017, **237**:47-57
- [15] Li J, Shi T D, Han J F, *et al.* A systematic study of *Tupaia* as a model for human acute hepatitis B infection. J Vet Med Sci, 2021, **83**(6):1004-1011
- [16] 王树声, 苏建家, 张华远, 等. 树鼩、熊猴感染人乙型肝炎病毒血清指征的研究. 中华实验和临床病毒学杂志, 2003, **17**:21-24
Wang S S, Su J J, Zhang H Y, *et al.* Chin J Exp Clin Virol, 2003, **17**:21-24
- [17] Mizuochi T, Okada Y, Umemori K, *et al.* Evaluation of 10 commercial diagnostic kits for *in vitro* expressed hepatitis B virus (HBV) surface antigens encoded by HBV of genotypes A to H. J Virol Methods, 2006, **136**(1-2):254-256
- [18] Okamoto H, Tsuda F, Sakugawa H, *et al.* Typing hepatitis B virus by homology in nucleotide sequence: comparison of surface antigen subtypes. J Gen Virol, 1988, **69**(10):2575-2583
- [19] Yang C, Ruan P, Qu C, *et al.* Chronic hepatitis B virus infection and occurrence of hepatocellular carcinoma in tree shrews (*Tupaia belangeri chinensis*). Virol J, 2015, **12**:26
- [20] Ping R, Yang C, Su J, *et al.* Histopathological changes in the liver of tree shrew (*Tupaia belangeri chinensis*) persistently infected with hepatitis B virus. Virol J, 2013, **10**(1):1-11
- [21] Yan G, Xu G W, He W H, *et al.* Sodium taurocholate cotransporting polypeptide is a functional receptor for human hepatitis B and D virus. Elife, 2013, **1**(1):e00049
- [22] Kock J, Nassal M, Macnelly S, *et al.* Efficient infection of primary *Tupaia* hepatocytes with purified human and woolly monkey hepatitis B virus. J Virol, 2001, **75**(11):5084-5089
- [23] Sanada T, Tsukiyama-Kohara K, Yamamoto N, *et al.* Property of hepatitis B virus replication in *Tupaia belangeri* hepatocytes. Biochem Biophys Res Commun, 2016, **469**(2):229-235
- [24] Schlabe S, Rockstroh J K. Advances in the treatment of HIV/HCV coinfection in adults. Expert Opin Pharmacol, 2018, **19**(1):49-64
- [25] Feng Y, Feng Y M, Lu C, *et al.* Tree shrew, a potential animal model for hepatitis C, supports the infection and replication of HCV *in vitro* and *in vivo*. J Gen Virol, 2017, **98**(8):2069-2078
- [26] Kayesh M, Ezzikouri S, Sanada T, *et al.* Oxidative stress and immune responses during hepatitis C virus infection in *Tupaia belangeri*. Sci Rep, 2017, **7**(1):9848
- [27] Amako Y, Tsukiyama-Kohara K, Katsume A, *et al.* Pathogenesis of hepatitis C virus infection in *Tupaia belangeri*. J Virol, 2010, **84**(1):303-311
- [28] Tong Y, Zhu Y, Xia X, *et al.* *Tupaia* CD81, SR-BI, claudin-1, and occludin support hepatitis C virus infection. J Virol, 2011, **85**(6):2793-2802
- [29] Xie Z C, Riezu-Boj J I, Lasarte J J, *et al.* Transmission of hepatitis C virus infection to tree shrews. Virology, 1998, **244**(2):513-520
- [30] Xu X, Chen H, Cao X, *et al.* Efficient infection of tree shrew (*Tupaia belangeri*) with hepatitis C virus grown in cell culture or from patient plasma. J Gen Virol, 2007, **88**:2504-2512
- [31] Wang F S. Current status and prospects of studies on human genetic alleles associated with hepatitis B virus infection. World J Gastroenterol, 2003, **9**(4):641-644
- [32] Zhou P, Yang X L, Wang X G, *et al.* A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. Nature. 2020, **579**(7798):270-273
- [33] Sohrabi C, Alsafi Z, O'Neill N, *et al.* World Health Organization declares global emergency: a review of the 2019 novel coronavirus (COVID-19). Int J Surg, 2020, **76**:71-76
- [34] Coronaviridae Study Group of the International Committee on Taxonomy of Viruses. The species severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: classifying 2019-nCoV and naming it SARS-CoV-2. Nat Microbiol, 2020, **5**(4):536-544
- [35] Munoz-Fontela C, Dowling W E, Funnell S G, *et al.* Animal models for COVID-19. Nature, 2020, **586**(7830):509-515
- [36] Xu L, Yu D D, Ma Y H, *et al.* COVID-19-like symptoms observed in Chinese tree shrews infected with SARS-CoV-2. Zool Res, 2020, **41**:517-526
- [37] Zhao Y, Wang J, Kuang D, *et al.* Susceptibility of tree shrew to SARS-CoV-2 infection. Sci Rep, 2020, **10**(1):16007
- [38] Yang Z F, Zhao J, Zhu Y T, *et al.* The tree shrew provides a useful alternative model for the study of influenza H1N1 virus. Virol J. 2013, **10**:111
- [39] Li R, Yuan B, Xia X, *et al.* Tree shrew as a new animal model to study the pathogenesis of avian influenza (H9N2) virus infection. Emerg Microbes Infect, 2018, **7**(1):166-178
- [40] Sanada T, Yasui F, Honda T, *et al.* Avian H5N1 influenza virus infection causes severe pneumonia in the Northern tree shrew (*Tupaia belangeri*). Virology, 2019, **529**:101-110
- [41] Xu S, Li X, Yang J, *et al.* Comparative pathogenicity and transmissibility of pandemic H1N1, avian H5N1, and human

- H7N9 influenza viruses in tree shrews. *Front Microbiol*, 2019, **10**:2955
- [42] Yuan B, Yang C, Xia X, *et al.* The tree shrew is a promising model for the study of influenza B virus infection. *Virology*, 2019, **16**(1):77
- [43] Gao G F. From "A"IV to "Z"IKV: attacks from emerging and re-emerging pathogens. *Cell*, 2018, **172**(6):1157-1159
- [44] Morrison T E, Diamond M S. Animal models of Zika virus infection, pathogenesis, and immunity. *J Virol*, 2017, **91**:e00009-17
- [45] Zhang N N, Zhang L, Deng Y Q, *et al.* Zika virus infection in *Tupaia belangeri* causes dermatological manifestations and confers protection against secondary infection. *J Virol*, 2019, **93**(8):e01982-18
- [46] Zhang L, Shen Z L, Feng Y, *et al.* Infectivity of Zika virus on primary cells support tree shrew as animal model. *Emerg Microbes Infect*, 2019, **8**(1):232-241
- [47] Simmons C P, Farrar J, Chau N V V, *et al.* Dengue. *N Engl J Med*, 2012, **366**:1423-1432
- [48] Kayesh M E H, Kitab B, Sanada T, *et al.* Susceptibility and initial immune response of *Tupaia belangeri* cells to dengue virus infection. *Infect Genet Evol*, 2017, **51**:203-210
- [49] Jiang L, Lu C, Sun Q. Tree shrew as a new animal model for the study of Dengue virus. *Front Immunol*, 2021, **12**:621164
- [50] Boehmer P, Nimnkar A. Herpes virus replication. *IUBMB Life*, 2003, **55**(1):13-22
- [51] World Health Organization. Herpes simplex virus[M/OL]. Geneva: WHO, 2020[2022-03-10]. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/herpes-simplex-virus>
- [52] Li L, Li Y, Li X, *et al.* HSV-1 infection and pathogenesis in the tree shrew eye following corneal inoculation. *J Neurovirol*, 2020, **26**(3):391-403
- [53] Li L, Li Z, Li X, *et al.* Reactivation of HSV-1 following explant of tree shrew brain. *J Neurovirol*, 2016, **22**(3):293-306
- [54] Darai G, Schwaier A, Komitowski D, *et al.* Experimental infection of *Tupaia belangeri* (tree shrews) with herpes simplex virus types 1 and 2. *J Infect Dis*, 1978, **137**(3):221-226
- [55] Wang E, Ye Y, Zhang K, *et al.* Longitudinal transcriptomic characterization of viral genes in HSV-1 infected tree shrew trigeminal ganglia. *Virology*, 2020, **17**(1):95
- [56] Luo M T, Mu D, Yang X, *et al.* Tree shrew cells transduced with human CD4 and CCR5 support early steps of HIV-1 replication, but viral infectivity is restricted by APOBEC3. *J Virol*, 2021, **95**: e0002021
- [57] Novacek M J. Mammalian phylogeny: shaking the tree. *Nature*, 1992, **356**(6365):121-125
- [58] Liu X H, Yao Y G. Characterization of 12 polymorphic microsatellite markers in the Chinese tree shrew (*Tupaia belangeri chinensis*). *Zool Res*, 2013, **34**(2):169-175
- [59] Li C H, Yan L Z, Ban W Z, *et al.* Long-term propagation of tree shrew spermatogonial stem cells in culture and successful generation of transgenic offspring. *Cell Res*, 2017, **27**(2):241-252
- [60] 江勤芳, 匡德宣, 全品芬, 等. 树鼯规模化繁殖及繁殖群的建立. *实验动物科学*, 2011, **28**(6):35-38
- Jiang Q F, Kuang D X, Tong P F, *et al.* *Laboratory Animal Science*, 2011, **28**(6):35-38

Recent Advances in Virus Infection Models of Tree Shrews*

ZHANG Fei-Yan^{1,2)}, XIAO Wen-Xian³⁾, MA Yu-Hua^{1,2)}, WU Ji-Wen^{1,2)}, ZHAO Ling^{1,2)}, Xie Li-Fen^{1,2)},
Wang Yun^{1,2)}, LI Yi-Jiang^{1,2)}, Chen Jia-Qi^{1,2)}, LÜ Long-Bao^{1,2,3)}**

¹⁾Kunming Institute of Zoology, Chinese Academy of Sciences, Kunming 650000, China;

²⁾National Resource Center for Non-Human Primates, Kunming 650000, China;

³⁾University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

Abstract Viral infection is a global public health threat causing nearly half of the incidence rate of major infectious diseases in China. Establishment of an animal model to mimic the progression of viral infectious diseases in humans is of great significance to study the pathogenesis and prevention of viral infectious diseases. Tree shrews, as the close relatives of primates, have a higher similarity with humans in physiology, biochemistry, genomics than rodents. Tree shrew has unique characteristics that render it a potentially advantageous animal model, including small body size, short reproductive cycle and life span, easy handling, low maintenance cost, and it can infect a variety of viruses related to human diseases. In this paper, the biological advantages of tree shrew as a novel animal model of viral infectious diseases are summarized, including distribution and evolutionary status, biology and physiology. In addition, the latest application of tree shrew in the research of many viral infectious diseases such as in hepatitis B virus, hepatitis A virus and other virus were compared and summarized.

Key words tree shrew, infection, animal model, hepatitis virus, respiratory virus, arbovirus

DOI: 10.16476/j.pibb.2022.0133

* This work was supported by a grant from National Resource Center for Non-Human Primates.

** Corresponding author.

Tel: 86-871-5196202, E-mail: lvlongbao@mail.kiz.ac.cn

Received: April 2, 2022 Accepted: April 29, 2022