



灵长类动物在人类神经系统疾病动物模型中的应用*

李乙江^{1,2)} 肖文娟³⁾ 赵玲^{1,2)} 谢丽分^{1,2)} 胡正飞^{1,2)} 陈佳琦^{1,2)}

魏俊玥^{1,2)} 张晓迪⁴⁾ 吕龙宝^{1,2,3)**}

(¹⁾ 中国科学院昆明动物研究所, 昆明 650201; (²⁾ 国家非人灵长类实验动物资源库, 昆明 650201;

(³⁾ 中国科学院大学, 北京 100049; (⁴⁾ 中国科学院深圳先进技术研究院, 深圳 518055)

摘要 灵长类动物遗传、行为、认知、生理、生化和解剖结构等生物学特性更接近人类, 具有其他实验动物无法替代的高级脑功能结构及神经活动的优势, 是研究人类神经系统疾病理想的模式动物, 研究的结果更容易推广应用到人类。常被用来建立神经退行性疾病、精神性疾病等疾病的动物模型, 研究其发病机制、病程的发生发展及治疗药物等, 为人类神经科学及相关医学研究做出了不可替代的贡献。本文综述了近年来国内外灵长类动物在人类神经系统疾病动物模型研究中的应用进展, 分析了该领域目前存在的困难和问题, 探讨了未来的一些研究方向, 以期对神经系统疾病的深入研究提供思路。

关键词 灵长类动物, 神经系统疾病, 疾病动物模型

中图分类号 Q95

DOI: 10.16476/j.pibb.2022.0134



食蟹猴 (*cynomolgus macaque*, *Macaca fascicularis*) 是神经系统、生殖系统、干细胞、传染病、糖尿病等人类疾病机理及动物模型研究较为理想的实验动物, 同时也是用于新药研发及药物安全性评价的重要模式动物。

灵长类动物遗传、行为、认知、生理、生化和解剖结构等生物学特性与人类比较接近, 具有高级的脑功能结构及神经活动的优势, 高度发达的前额叶皮质控制着高级认知功能, 是其他实验动物不可替代的, 能更好地回答各种分子细胞机理是否在整体水平上表现出类似于人类的生物学问题以及疾病特征和过程, 是研究人类神经系统疾病理想的模式动物, 研究的结果更容易推广应用到人。常被用于建立神经退行性疾病、精神性疾病等疾病的动物模型, 研究其发病机制、病程的发生发展及治疗药物等, 为人类神经科学及相关医学研究做出了不可替代的贡献。本文综述了近年来国内外灵长类动物在人类神经系统疾病动物模型研究中的应用进展, 分析了该领域目前存在的困难和问题, 探讨了未来的一些研究方向, 以期对神经系统疾病的深入研究提

供思路。

1 神经系统疾病研究常用灵长类动物

目前, 神经系统疾病研究中常用的是猕猴属动物, 以猕猴、食蟹猴为主, 其次是绒猴属的普通棉耳猴, 还有用灰鼠猴、非洲绿猴、松鼠猴、狒狒等^[1-2]。通常根据研究的特定目的, 选择适合的模式动物进行研究。本文根据饲养经验和文献报道^[2-4], 总结了常用的3种灵长类动物的发育生理参数 (表1), 主要发育时间点和寿命的比较 (图1)。

* 国家自然科学基金 (62027812) 资助项目。

** 通讯联系人。

Tel: 0871-65130513, E-mail: lvlongbao@mail.kiz.ac.cn

收稿日期: 2022-04-02, 接受日期: 2022-04-29

Table 1 Developmental physiological parameters of three non-human primates species

表1 3种非人灵长类动物的发育生理参数表

	猕猴	食蟹猴	狨猴
性情	暴躁	温顺	温顺
体型 ^[5]	较大	中等	较小
	体重2.5~18 kg	体重2.5~18 kg	体重337~413 g
	体长47~64 cm	体长40~47 cm	体长16.5~19.9 cm
性成熟	雄猴: 3.5~4.5岁 雌猴: 2.5~3岁	雄猴: 3.5~4岁 雌猴: 2.5~3岁	雄猴: 1~1.2岁 雌猴: 1~1.2岁
体成熟	雄猴: 3.5~4岁 雌猴: 2.5~3岁	雄猴: 5~7岁 雌猴: 4~5岁	雄猴: 2~3岁 雌猴: 2~3岁
妊娠期	约155 d	约155 d	约144 d
产仔	一胎1只	一胎1只	一胎1~3只
生产间隔	季节性繁殖 一年繁殖1次	全年可繁殖 一年繁殖1~2次	全年可繁殖 一年繁殖1~2次
绝经期 ^[2]	25岁	29岁	——
老年年龄 ^[2]	20岁	20岁	7~8岁
平均寿命 ^[2]	约25~33岁	约25~30岁	约11~13岁
最大寿命 ^[2]	44岁	37岁	22岁

“——”表示剩余寿命中持续繁殖^[3-4]。

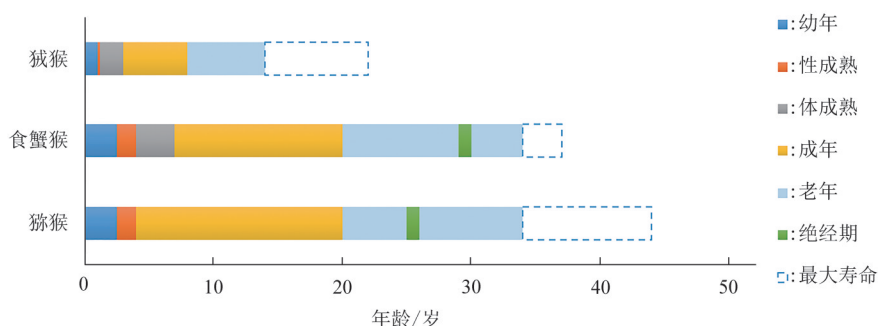


Fig. 1 Comparison of major developmental time points and approximate lifespan in three non-human primates species

图1 3种非人灵长类的主要发育时间和寿命的比较图

猕猴，又名恒河猴（rhesus macaque, *Macaca mulatta*），为季节性繁殖动物，其适应性强，易驯养繁殖，行为、生理、生化和解剖学等生物学特性等更接近人类，而作为重要生物资源，全球每年对其需求量很大。与其他灵长类动物相比，猕猴具有稳定而完善的睡眠系统，睡眠过程的各种特征脑电波易被区分，出现与人类相似的周期性脑电变化，但海马不能记录到明显的theta波^[6]，与人类睡眠极为相似。因而，猕猴是研究具有共同睡眠障碍症状神经系统疾病的潜力模式动物。猕猴与人脑前额叶皮层之间的细胞组成与结构相似，在其衰老过程中能观察到前额叶依赖性认知变化^[7]，且在衰老过程中脑出现β淀粉样蛋白（amyloid β-protein, Aβ）

和tau蛋白。可见，猕猴是特别适合研究认知功能、神经障碍以及复杂行为的模式动物。

食蟹猴（cynomolgus macaque, *Macaca fascicularis*）体型较猕猴小，性格温顺，全年可繁殖，生命周期长，被广泛应用于毒理学、药理学、生理学、生殖生物学以及慢性病模型等领域的研究，被认为是一种重要的实验动物。食蟹猴除了有其他灵长类动物优势外，其衰老过程更接近人类，Li等^[8]发现食蟹猴可自然地罹患帕金森病（Parkinson's disease, PD），这表明食蟹猴与人类共有这种疾病，能很好地模仿PD患者的病程发生发展，所表现出的行为症状和病理变化与PD患者相当，是研究PD病因发病机制的理想模式

动物^[9-10]。

普通棉耳狨猴 (common marmoset, *Callithrix jacchus*), 体型小、发育快、繁殖快, 寿命比老鼠长, 但比猕猴短, 能更快完成大脑发育和衰老的研究^[11-14]。它还拥有优于其他灵长类动物丰富的社会信号系统, 如对偶呼叫、合作行为等, 可表现出与人类相似的灵活的社会性行为模式^[15]。由于其大脑尺寸较小, 可改进啮齿类动物的现有技术用于狨猴脑科学研究, 如钙成像、光遗传学等^[16-17]。它有类似灵长类动物控制认知功能的前额叶皮质结构, 但无脑回旋, 与高度复杂的猕猴大脑相比, 其平滑的大脑表面更容易通过电生理学和光学成像进行全面的大脑映射分析^[15, 18-19]。常被用研究人类整个生命周期的行为和认知的脑科学问题。

2 神经系统疾病灵长类动物模型研究进展

2.1 神经退行性疾病模型

神经退行性疾病是由神经细胞的结构改变和功能丧失所致, 随着年龄衰老而恶化, 最终导致神经元功能发生障碍。帕金森病、阿尔茨海默病 (Alzheimer's disease, AD)、亨廷顿病 (Huntington's disease, HD)、肌萎缩侧索硬化症 (amyotrophic lateral sclerosis, ALS) 为常见的四大神经退行性疾病, 现缺乏有效治愈手段, 严重影响老年人的生活质量, 给家庭和社会造成了巨大的精神压力和经济负担, 已成为整个社会需要解决的问题。

PD是一种常见于中老年人的神经系统退行性疾病, 表现出运动迟缓、静止性震颤、姿势异常与肌强直的典型临床症状, 及中脑黑质多巴胺能神经元的丢失、磷酸化 α 突触核蛋白 (α -synuclein, α -syn) 聚集形成路易小体与路易突起的经典病理变化^[20-21]。PD相关动物模型种类多样, 发展迅速, 常用的PD动物模型按照其处理方式主要分为3类: 神经毒素模型、转基因模型与二者连用模型。经典PD猴模型是通过给药1-甲基-4-苯基-1,2,3,6-四氢吡啶或6-羟多巴胺等^[22-24]神经毒素诱导, 仅能模拟PD的症状和一些病理特征, 很难反映PD患者的疾病真实发展过程。Niu等^[25]通过慢病毒载体在猴受精卵中表达突变的 α -syn (A53T), 以胚胎移植的方式, 建立了A53T转基因PD猕猴模型, 表现出认知缺陷和焦虑的PD早期症状, 但没观察到睡眠障碍, 表明 α -syn的突变可引起PD特定的早期症状, 为PD早期治疗提供了思路。有关PD遗

传研究发现, 干扰或调控与线粒体和能量相关的特定基因会导致PD发生, 包括常染色体显性遗传PD相关基因 (α -syn、LRRK2、UCH-L1), 与常染色体隐性遗传PD相关基因 (Parkin、PINK1、DJ-1、HTRA2、ATP13A2) 两类^[26]。Li等^[27-28]在发现了第一只自发罹患PD的食蟹猴后, 通过CRISPR/Cas9系统编辑成年猕猴大脑PINK1和DJ-1基因, 诱发中、老年猕猴表现出典型PD表型, 如运动迟缓、震颤、体位不稳等, 并伴有黑质多巴胺能神经元严重缺失 (>64%) 和基因编辑的黑质中有明显的 α -syn典型病理变化。该方法能在较短时间 (6~10个月) 内批量建模, 这为今后PD研究提供了一种实用的转基因猕猴模型, 也为治疗PD提供了一种治疗思路。

AD是一种随年龄增长认知功能障碍与行为损伤逐渐加重的神经系统退行性疾病, 表现为进行性记忆减退、语言和行为障碍、神经元丢失、A β 沉淀形成的老年斑及tau蛋白过度磷酸化形成的神经纤维缠结^[29]。自然状态下, 一些老年灵长类动物的脑, 如猕猴^[30-32]、食蟹猴^[33]、普通狨猴^[34-35]、非洲绿猴^[36]、灰鼠狐猴^[37]、巴巴利猕猴^[36]、黑猩猩^[36]等, 会出现人类A β 和tau蛋白病变, 但无缠结^[36]。Gary等^[37]用AD患者的脑匀浆接种小鼠狐猴, 建立的AD模型表现出进行性认知障碍、神经元活动改变、大面积的进行性脑萎缩、海马和内嗅皮质中的神经元损失, 以及A β 沉积和tau损伤。Forny-Germano等^[33]和Beckman等^[32]将A β 分别注射到食蟹猴和猕猴大脑中, 分别建立了AD食蟹猴和猕猴模型, 但并没出现和人一样的大面积tau蛋白病变, 因而诱导tau蛋白增殖模型可能是研究关键^[30-31]。在A β 诱导的猕猴模型中, 观察到被治疗的雌性猕猴出现了一系列神经变化, 这有助于更好地理解AD在性别上的特异性表现。Zhai等^[38-39]和Li等^[40]利用猕猴研究发现甲醇可在大脑中转化为甲醛, 且甲醛可引起AD特征性病变和认知障碍。AD自发模型与其诱导模型相结合, 有助于研究AD的治疗, 减缓甚至逆转AD病程。

HD是一种常染色体单亨廷顿蛋白 (HTT) 基因显性遗传的神经退行性疾病, 主要表现为舞蹈样的不自主动作 (晚期运动能力逐渐丧失)、精神障碍和进行性认知障碍^[41]。Yang等^[42]采用表达异常HTT的慢病毒感染猕猴受精卵母细胞, 建立了首个HTT转基因HD猕猴模型, 其表现出与人类相似的舞蹈症、肌张力障碍、吞咽困难、明显的焦虑、

易怒、攻击性, 进行性脑萎缩与全白质改变, 神经元轴突退化^[43], 且HTT的突变对大动物产生更大、更敏感的毒性, 可使转基因猴在出生后不久发生死亡。这为HD的深入研究与有效治疗提供了重要平台。

ALS是以选择性上、下运动神经元损害为特征的慢性进行性神经系统变性疾病, 导致运动和非运动症状, 常因呼吸衰竭死亡^[44]。因部分ALS患者携带突变的SOD1, Borel等^[45]以腺相关病毒为载体将靶向SOD1的人工miRNA注射到猕猴腰鞘内沉默SOD1, 在获得的SOD1-ALS猕猴模型中, 运动神经元和脊髓中检测到SOD1表达水平的降低。最近, 他们用同样的方法获得了SOD1-ALS食蟹猴模型^[46], 进一步验证了SOD1基因在运动神经元中的有效传递和有效沉默, 为使用人工miRNA靶向基因治疗ALS提供了思路。也有报道TDP-43、FUS涉及ALS患者额叶变性^[47-48]。Endo等^[49]构建了以腺相关病毒为载体靶向FUS的shRNA干扰体并注射到猕猴大脑中, 沉默了其大脑中FUS, 获得了FUS-ALS猕猴模型。Uchida等^[50]构建了表达TDP-43的腺相关病毒载体并注射到食蟹猴脊髓, 在获得的TDP-43过表达食蟹猴模型中, 表现出肌肉萎缩、进行性运动障碍, 表明TDP-43定位错误可导致 α 运动神经元变性。这些研究结果为基因治疗神经系统疾病提供了另一治疗思路。

此外, 灵长类动物还应用于隐性X连锁的肌营养不良蛋白基因突变所致的杜氏肌营养不良症(Duchenne muscular dystrophy, DMD)的研究。Chen等^[51]使用CRISPR/Cas9技术靶向破坏猕猴的肌营养不良蛋白基因建立了DMD猕猴模型, 在模型早期观察到肌营养不良蛋白显著减少和肌肉退化, 提示在疾病早期进行治疗, 可有效缓解疾病的进程, 为DMD治疗提供了思路。

2.2 精神性疾病模型

孤独症谱系障碍(autism spectrum disorder, ASD)是一类严重的神经发育障碍性疾病, 核心症状为社会交往障碍和重复刻板行为。近年来, 随着该病全球发病率的增加, 对儿童本身和家庭造成了影响, 已逐渐从医学问题成为医学背景下亟需解决的社会问题。多数研究认为ASD由遗传与发育的早期环境因素共同作用所致^[52-53], 但ASD的发病机制并不完全清楚。最近有研究表明, 敲除小鼠体内分布于神经系统的巨型ANK2基因, 对小鼠的脑结构发育无影响, 但会造成小鼠交流和社交功能的

轻度损伤, 表明其突变和非综合征型ASDs发病相关^[54]。Qin等^[55]应用基因编辑技术, 分别成功地敲除了食蟹猴和猕猴体内巨型ANK2基因, 获得的两种猴模型均表现出大脑发育异常、脑容量急剧丢失, 但未表现出非综合征型ASDs样症状, 其睡眠-觉醒周期、社交互动和环境探索行为均呈现正常。这表明巨型ANK2基因在灵长类动物大脑发育中起到关键作用, 并充分的说明了巨型ANK2基因在啮齿类动物和灵长类动物之间存在着巨大的进化差异。有研究表明, 该疾病的发生与X连锁的单等位基因MECP2的突变相关联^[56-58], MECP2因突变而丧失功能, 可导致自闭症谱系中的神经发育障碍, 该病被称为Rett综合征(Rett syndrome, RTT)。Wu等^[59]将CRISPR/Cas9系统的腺相关病毒注射到青春期猕猴调控社交记忆的海马脑区, 建立的经过编辑海马脑区MECP2的猕猴模型表现出社交障碍、睡眠节律紊乱等多种与孤独症患者核心症状非常相似的行为改变, 但却没观察到刻板行为, 有可能是不同的脑区在该病的进程中扮演着不同的角色。这与主流的基于胚胎转基因技术构建的MECP2转基因灵长类动物模型^[56-57]相比, 更进一步体现了CRISPR/Cas9基因编辑技术的优势, 回避了制作周期长、成功率低、成本高及嵌合体等问题。Liu等^[60]采用TALENs基因编辑技术, 将靶向MECP2的TALEN质粒分别显微注射到猕猴和食蟹猴受精卵中, 对MECP2进行有效的基因编辑, 分别获得MECP2突变的RTT猕猴模型和食蟹猴模型, 在出生的后代中有3只雄性猴均在妊娠中期死亡, 在其外周组织中可检测到大量的MECP2突变, 与人类中RTT关联的男性胚胎致死率一致。这些研究更进一步的支持了基因编辑技术用于有效治疗神经系统疾病的观点。

抑郁症是由各种原因引起的以显著而持久的情绪低落为主要特征的一种精神障碍, 表现出情绪低落、兴趣减退、思维迟缓、饮食睡眠障碍、认知功能损害以及其他各种躯体性症状^[61]。其发病机制复杂, 目前尚未完全阐明, 建立抑郁症动物模型, 对于抑郁症病因、发病机制以及药物筛选具有重要意义。Chu等^[62]和Qin等^[63-67]在发现的自发性冬季抑郁猕猴模型中, 观察到抑郁样的蜷缩行为、较少的自发运动与反应性运动、体重减轻、快感缺乏和皮质醇增多症, 在成年雌性猕猴及产后成年雌性食蟹猴中同样也发现了自发性抑郁模型, 经过抗抑郁药盐酸氯米帕明的治疗, 逆转了相关症状。在随

后的进一步研究中,发现了慢性糖皮质激素可诱导猕猴表现出抑郁样症状,并且压力与皮质醇水平呈正相关,压力与皮质醇相互作用可以预测猴子的抑郁行为,这一发现扩展了目前对抑郁症中压力/皮质醇相互作用的理解,尤其是与女性有关的抑郁症。Coplan等^[68]通过人为干预母猴对觅食需求,建立了母婴分离的抑郁症猕猴模型,幼猴玩耍行为明显减少,且有明显的焦虑及抑郁样蜷缩行为,在其成年后除了行为改变,还出现中枢神经系统结构改变及脑脊液性质变化,表明幼儿时期不良事件的发生会对其成年的行为和生理改变带来影响,这与人类抑郁症患者一致的。李鑫^[69]采用vertical chamber 拘禁方法建立的雌性食蟹猴抑郁模型表现出抑郁样蜷缩行为、社会交流行为减少、高频率的情感依附行为和焦虑行为。抑郁症灵长类动物模型的发现与建立,为了解抑郁症病因以及未来开发新的治疗措施提供重要平台。

精神分裂症是一种神经系统结构功能发育异常及变性所致疾病,具有积极症状(妄想、幻觉、思维障碍)、消极症状(快感缺乏、逃避、社交退缩、思维贫乏)和认知功能障碍的神经异质障碍^[70],其中认知功能障碍是精神分裂症的核心症状。有报道使用参与认知功能发育的NMDA受体拮抗剂苯环利定,构建了猴分裂症模型,用抗精神药物氯氮平后可改善其症状^[71]。Ma等^[72]在氯胺酮诱导的精神分裂症猕猴模型中观察到工作记忆缺陷,及工作记忆的关键大脑区域外侧前额叶皮层的神经震荡活动发生了改变。吴喆^[73]在NMDA受体拮抗剂苯环己哌啶诱导的精神分裂症食蟹猴模型中,也观察到了食蟹猴模型双侧前额叶gamma震荡能量下降,验证了多巴胺能药物对gamma震荡的影响。上述结果表明,前额叶功能障碍与精神分裂症密切相关。这为揭开精神分裂症发生的神秘面纱奠定了研究基础。

此外,灵长类动物还用于中风、癫痫等神经系统疾病的研究。陈宁等^[74]通过立体定向技术将红藻氨酸注入猕猴右侧海马内,建立了癫痫猕猴模型,观察到其影像学和组织病理学结果与人类颞叶癫痫非常相似。Ge等^[75]通过向猕猴脑区显微注射内皮素1,建立了猕猴脑缺血性中风模型,而后采用靶向AAV NeuroD1的基因疗法,可再生的新神经元能对成年灵长类动物缺血性中风后受损的大脑进行组织修复。这些研究结果为脑缺血性中风的有效治疗奠定了基础。

2.3 其他神经系统研究模型

随着对灵长类动物越来越深入的研究,灵长类动物还用于生物钟紊乱对人类睡眠障碍影响、人类进化、视力衰退等领域的研究。Liu等^[76]和Qiu等^[77]构建了敲除BMAL1的生物节律紊乱的食蟹猴模型,观察到在幼龄时期昼夜活动异常,在环境中极少探索,面对工作人员时出现躲避与蜷缩行为,对新事物表现出负面、消极的反应行为与抑郁患者极为相似。Shi等^[78]采用慢病毒系统成功构建了11只携带人类大脑发育与进化重要基因MCPH1的转基因猕猴模型,首次尝试研究人类大脑进化,观察到脑发育延迟的猕猴有更好的工作记忆和更短的反应时间,显示了大脑发育过程中单个基因的人类特异性突变引起的新生变化,是人类特有的遗传机制。随着年龄的增长,GABA等神经递质在脑部的几个区域的抑制作用都会有所下降,Leventhal等^[79]使用GABA和GABA激动剂改善了老年猕猴的视力。Hu等^[80]对幼年猕猴用不同相关色温(correlated color temperature, CCT)构成的4种典型光源研究了CCT与近视眼轴增长之间的关系,阐明了低CCT光照下猕猴的眼轴增长显著小于高CCT光照下猕猴眼轴增长的关系,为预防青少年近视提供新的手段和方法。可见,人类疾病灵长类动物模型在生命科学与生物医药研究领域中的巨大潜力与贡献。

3 存在的问题与展望

近几年,随着生物医药领域的迅猛发展,脑科学与类脑科学研究项目的启动,以及重大传染病暴发流行(如SARS、新冠肺炎等)等重大需求,灵长类动物使用需求快速增加,多种因素造成灵长类动物资源的紧缺,一定程度影响了神经系统疾病动物模型研究进展,主要体现在以下三方面:a.受到大分子药物快速发展的影响。考虑到灵长类动物对药物较为敏感,国内外新药临床前试验多选用灵长类动物。据相关行业报告数据,中国药品监督管理局药品评审中心完成的新药临床试验申请评价数量,已经从2014年的494项增长到2019年的983项(http://www.cde.cn/cysc/yy/hydt/202104/19/t20210419_36485909.shtml)。中国灵长类养殖开发协会统计,国内实验猴销量和使用量,从2013年的近8 000余只增加到2019年的近30 000余只,主要用于药物研发和安全评价,基础研究每年用量大约在5 000只。到了2020年国内使用灵长类动物约34 000余

只,其中25 000余只用于药物安全性评价,9 000余只用于其他科学实验。在新冠疫情影响下,2020年国家暂停灵长类动物的进出口,多种因素造成“一猴难求”、价格暴增。此外,可提供退行性神经系统疾病研究的老年灵长类动物所占比例也较小,在一定程度上加剧影响该领域的研究进程。b. 目前,该领域缺乏灵长类动物生命周期的生理生化相关数据参数,而这些参数对于分辨健康和神经系统疾病的表型较为重要。c. 一般研究项目资助年限多为3~5年,从而正在开展的神经系统疾病的研究会因灵长类动物应用成本的增加而受影响。

随着CRISPR/Cas9基因编辑等基因工程技术的快速发展与广泛应用,在创建人类疾病灵长类动物模型方面取得重大进展,能在较短时间内获得神经系统疾病灵长类动物模型,加快相关疾病动物模型的创建工作。目前,中国科学院昆明动物研究所承担建设的世界上首个对灵长类动物表型与遗传进行全尺度研究、国际一流的大型“模式动物(灵长类)表型与遗传研究国家重大科技基础设施”即将投入使用,为突破灵长类动物模型构建与应用相关技术瓶颈再添平台优势及保障。

与此同时,为了提升灵长类实验动物资源的战略储备及可持续利用水平,满足国家战略层面、生物医学和生物产业发展对灵长类动物的需求,2019年科技部、财政部批准依托中国科学院昆明动物研究所建设“国家非人灵长类实验动物资源库”,以种质资源库、生物样本库、疾病动物模型库和信息数据库4个模块建设,从资源收集与保存、科技资源汇交、资源挖掘与应用、开放共享与服务、共性技术研发与资源研制、国内外动态监测和国内外交流与合作7个方面,收集、整合、优化灵长类动物和树鼩种质资源,并开展共享服务,可避免资源浪费,实现灵长类动物资源的可持续利用及发展,为缓解灵长类动物资源的紧缺问题奠定坚实基础及保障。这些工作的开展,有助于解决灵长类动物在神经系统疾病研究和新药研发中广泛应用的瓶颈问题。本文通过对灵长类动物在人类神经系统疾病动物模型中的应用介绍,以期帮助科研人员根据研究的特定目的选择合适的造模方法。

参 考 文 献

- [1] Didier E S, Maclean A G, Mohan M, *et al.* Contributions of nonhuman primates to research on aging. *Vet Pathol*, 2016, **53**(2): 277-290
- [2] Shively C A, Lacreuse A, Frye B M, *et al.* Nonhuman primates at the intersection of aging biology, chronic disease, and health: an introduction to the american journal of primatology special issue on aging, cognitive decline, and neuropathology in nonhuman primates. *Am J Primatol*, 2021, **83**(11): e23309
- [3] Nishijima K, Saitoh R, Tanaka S, *et al.* Life span of common marmoset (*Callithrix jacchus*) at CLEA Japan breeding colony. *Biogerontology*, 2012, **13**(4): 439-443
- [4] Tardif S D, Araujo A, Arruda M F, *et al.* Reproduction and aging in marmosets and tamarins. *Interdiscip Top Gerontol*, 2008, **36**: 29-48
- [5] 陈波, 谭睿陟, 王丽, 等. 非人灵长类动物慢性肾病模型研究进展. *动物医学进展*. 2017, **38**(5): 103-107
- [5] Chen B, Tan R Z, Wang L, *et al.* Progress in Veterinary Medicine. 2017, **38**(5): 103-107
- [6] Hsieh K C, Robinson E L, Fuller C A. Sleep architecture in unrestrained rhesus monkeys (*Macaca mulatta*) synchronized to 24-hour light-dark cycles. *Sleep*, 2008, **31**(9): 1239-1250
- [7] Upright N A, Baxter M G. Prefrontal cortex and cognitive aging in *Macaque* monkeys. *Am J Primatol*, 2021, **83**(11): e23250
- [8] Li H, Su L Y, Yang L, *et al.* A cynomolgus monkey with naturally occurring Parkinson's disease. *Natl Sci Rev*, 2021, **8**(3): nwaa292
- [9] Buffalo E A, Movshon J A, Wurtz R H. From basic brain research to treating human brain disorders. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2019, **116**(52): 26167-26172
- [10] Shi L, Su B. A transgenic monkey model for the study of human brain evolution. *Zool Res*, 2019, **40**(3): 236-238
- [11] Okano H, Hikishima K, Iriki A, *et al.* The common marmoset as a novel animal model system for biomedical and neuroscience research applications. *Semin Fetal Neonatal Med*, 2012, **17**(6): 336-340
- [12] Salmon A B. Moving toward 'common' use of the marmoset as a non-human primate aging model. *Pathobiol Aging Age Relat Dis*, 2016, **6**: 32758
- [13] Sasaki E. Prospects for genetically modified non-human primate models, including the common marmoset. *Neurosci Res*, 2015, **93**: 110-115
- [14] Tokuno H, Watson C, Roberts A, *et al.* Marmoset neuroscience. *Neurosci Res*, 2015, **93**: 1-2
- [15] Miller C T, Freiwald W A, Leopold D A, *et al.* Marmosets: a neuroscientific model of human social behavior. *Neuron*, 2016, **90**(2): 219-233
- [16] Macdougall M, Nummela S U, Coop S, *et al.* Optogenetic manipulation of neural circuits in awake marmosets. *J Neurophysiol*, 2016, **116**(3): 1286-1294
- [17] Sadakane O, Masamizu Y, Watakabe A, *et al.* Long-term two-photon calcium imaging of neuronal populations with subcellular resolution in adult non-human Primates. *Cell Rep*, 2015, **13**(9): 1989-1999
- [18] Worley K C, Warren W C, Rogers J, *et al.* The common marmoset genome provides insight into primate biology and evolution. *Nat Genet*, 2014, **46**(8): 850-857
- [19] Miller C T. Why marmosets?. *Dev Neurobiol*, 2017, **77**(3):

- 237-243
- [20] Maiti P, Manna J, Dunbar G L. Current understanding of the molecular mechanisms in Parkinson's disease: targets for potential treatments. *Transl Neurodegener*, 2017, **6**: 28
- [21] Marmion D J, Kordower J H. α -Synuclein nonhuman primate models of Parkinson's disease. *J Neural Transm (Vienna)*, 2018, **125**(3): 385-400
- [22] Li H, Lei X, Huang B, *et al.* A quantitative approach to developing Parkinsonian monkeys (*Macaca fascicularis*) with intracerebroventricular 1-methyl-4-phenylpyridinium injections. *J Neurosci Methods*, 2015, **251**: 99-107
- [23] Bezard E, Dovero S, Prunier C, *et al.* Relationship between the appearance of symptoms and the level of nigrostriatal degeneration in a progressive 1-methyl-4-phenyl-1, 2, 3, 6-tetrahydropyridine-lesioned macaque model of Parkinson's disease. *J Neurosci*, 2001, **21**(17): 6853-6861
- [24] Crossman A R, Sambrook M A. Experimental torticollis in the monkey produced by unilateral 6-hydroxy-dopamine brain lesions. *Brain Res*, 1978, **149**(2): 498-502
- [25] Niu Y, Guo X, Chen Y, *et al.* Early Parkinson's disease symptoms in α -synuclein transgenic monkeys. *Hum Mol Genet*, 2015, **24**(8): 2308-2317
- [26] Nuytemans K, Theuns J, Cruts M, *et al.* Genetic etiology of Parkinson's disease associated with mutations in the SNCA, PARK2, PINK1, PARK7, and LRRK2 genes: a mutation update. *Hum Mutat*, 2010, **31**(7): 763-780
- [27] Li H, Yao Y G, Hu X T. Biological implications and limitations of a cynomolgus monkey with naturally occurring Parkinson's disease. *Zool Res*, 2021, **42**(2): 138-140
- [28] Li H, Wu S, Ma X, *et al.* Co-editing PINK1 and DJ-1 genes via adeno-associated virus-delivered CRISPR/Cas9 system in adult monkey brain elicits classical parkinsonian phenotype. *Neurosci Bull*, 2021, **37**(9): 1271-1288
- [29] Long J M, Holtzman D M. Alzheimer disease: an update on pathobiology and treatment strategies. *Cell*, 2019, **179**(2): 312-339
- [30] Beckman D, Chakrabarty P, Ott S, *et al.* A novel tau-based rhesus monkey model of Alzheimer's pathogenesis. *Alzheimers Dement*, 2021, **17**(6): 933-945
- [31] Beckman D, Morrison J H. Towards developing a rhesus monkey model of early Alzheimer's disease focusing on women's health. *Am J Primatol*, 2021, **83**(11): e23289
- [32] Beckman D, Ott S, Donis-Cox K, *et al.* Oligomeric A β in the monkey brain impacts synaptic integrity and induces accelerated cortical aging. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2019, **116**(52): 26239-26246
- [33] Forny-Germano L, Lyra E Silva N M, Batista A F, *et al.* Alzheimer's disease-like pathology induced by amyloid- β oligomers in nonhuman primates. *J Neurosci*, 2014, **34**(41): 13629-13643
- [34] Philippens I H, Ormel P R, Baarends G, *et al.* Acceleration of amyloidosis by inflammation in the amyloid-beta marmoset monkey model of Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis*, 2017, **55**(1): 101-113
- [35] Ross C N. Chapter 21 - Marmosets in aging research//Marini R, Wachtman L, Tardif S, *et al.* The common marmoset in captivity and biomedical research. Oxford: Academic Press, 2019: 355-376
- [36] Freire-Cobo C, Edler M K, Varghese M, *et al.* Comparative neuropathology in aging primates: a perspective. *Am J Primatol*, 2021, **83**(11): e23299
- [37] Gary C, Lam S, Hérard A S, *et al.* Encephalopathy induced by alzheimer brain inoculation in a non-human primate. *Acta Neuropathol Commun*, 2019, **7**(1): 126
- [38] Zhai R, Rizak J, Zheng N, *et al.* Alzheimer's disease-like pathologies and cognitive impairments induced by formaldehyde in non-human primates. *Curr Alzheimer Res*, 2018, **15**(14): 1304-1321
- [39] Zhai R, Zheng N, Rizak J, *et al.* Evidence for conversion of methanol to formaldehyde in nonhuman primate brain. *Anal Cell Pathol (Amst)*, 2016, **2016**: 4598454
- [40] Li Z H, He X P, Li H, *et al.* Age-associated changes in amyloid- β and formaldehyde concentrations in cerebrospinal fluid of rhesus monkeys. *Zool Res*, 2020, **41**(4): 444-448
- [41] Pan L, Feigin A. Huntington's disease: new frontiers in therapeutics. *Curr Neurol Neurosci Rep*, 2021, **21**(3): 10
- [42] Yang S H, Cheng P H, Banta H, *et al.* Towards a transgenic model of Huntington's disease in a non-human primate. *Nature*, 2008, **453**(7197): 921-924
- [43] Snyder B R, Chan A W S. Progress in developing transgenic monkey model for Huntington's disease. *J Neural Transm (Vienna)*, 2018, **125**(3): 401-417
- [44] Hardiman O, Al-Chalabi A, Chio A, *et al.* Amyotrophic lateral sclerosis. *Nat Rev Dis Primers*, 2017, **3**: 17071
- [45] Borel F, Gernoux G, Cardozo B, *et al.* Therapeutic rAAVrh10 mediated SOD1 silencing in adult SOD1(G93A) mice and nonhuman primates. *Hum Gene Ther*, 2016, **27**(1): 19-31
- [46] Borel F, Gernoux G, Sun H, *et al.* Safe and effective superoxide dismutase 1 silencing using artificial microRNA in macaques. *Sci Transl Med*, 2018, **10**: 465
- [47] Arai T, Hasegawa M, Akiyama H, *et al.* TDP-43 is a component of ubiquitin-positive tau-negative inclusions in frontotemporal lobar degeneration and amyotrophic lateral sclerosis. *Biochem Biophys Res Commun*, 2006, **351**(3): 602-611
- [48] Seelaar H, Rohrer J D, Pijnenburg Y A, *et al.* Clinical, genetic and pathological heterogeneity of frontotemporal dementia: a review. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 2011, **82**(5): 476-486
- [49] Endo K, Ishigaki S, Masamizu Y, *et al.* Silencing of FUS in the common marmoset (*Callithrix jacchus*) brain via stereotaxic injection of an adeno-associated virus encoding shRNA. *Neurosci Res*, 2018, **130**: 56-64
- [50] Uchida A, Sasaguri H, Kimura N, *et al.* Non-human primate model of amyotrophic lateral sclerosis with cytoplasmic mislocalization of TDP-43. *Brain*, 2012, **135**(Pt 3): 833-846
- [51] Chen Y, Zheng Y, Kang Y, *et al.* Functional disruption of the dystrophin gene in rhesus monkey using CRISPR/Cas9. *Hum Mol*

- Genet, 2015, **24**(13): 3764-3774
- [52] Muhle R, Trentacoste S V, Rapin I. The genetics of autism. *Pediatrics*, 2004, **113**(5): e472-e486
- [53] Rai D, Lee B K, Dalman C, *et al.* Parental depression, maternal antidepressant use during pregnancy, and risk of autism spectrum disorders: population based case-control study. *BMJ*, 2013, **346**: f2059
- [54] Yang R, Walder-Christensen K K, Kim N, *et al.* ANK2 autism mutation targeting giant ankyrin-B promotes axon branching and ectopic connectivity. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2019, **116**(30): 15262-15271
- [55] Qin D D, Zhou J K, He X C, *et al.* Depletion of giant ANK2 in monkeys causes drastic brain volume loss. *Cell Discov*, 2021, **7**(1): 113
- [56] Chen Y, Yu J, Niu Y, *et al.* Modeling Rett syndrome using TALEN-edited MECP2 mutant cynomolgus monkeys. *Cell*, 2017, **169**(5): 945-955.e10
- [57] Liu Z, Li X, Zhang J T, *et al.* Autism-like behaviours and germline transmission in transgenic monkeys overexpressing MeCP2. *Nature*, 2016, **530**(7588): 98-102
- [58] Nan X, Campoy F J, Bird A. MeCP2 is a transcriptional repressor with abundant binding sites in genomic chromatin. *Cell*, 1997, **88**(4): 471-481
- [59] Wu S H, Li X, Qin D D, *et al.* Induction of core symptoms of autism spectrum disorder by *in vivo* CRISPR/Cas9-based gene editing in the brain of adolescent rhesus monkeys. *Science Bull*, 2021, **66**(9): 937-946
- [60] Liu H, Chen Y, Niu Y, *et al.* TALEN-mediated gene mutagenesis in rhesus and cynomolgus monkeys. *Cell Stem Cell*, 2014, **14**(3): 323-328
- [61] Gold P W, Machado-Vieira R, Pavlatou M G. Clinical and biochemical manifestations of depression: relation to the neurobiology of stress. *Neural Plast*, 2015, **2015**: 581976
- [62] Chu X X, Dominic Rizak J, Yang S C, *et al.* A natural model of behavioral depression in postpartum adult female cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*). *Zool Res*, 2014, **35**(3): 174-181
- [63] Qin D D, Dominic Rizak J, Feng X L, *et al.* Social rank and cortisol among female rhesus macaques (*Macaca mulatta*). *Zool Res*, 2013, **34**(E2): E42-49
- [64] Qin D D, Rizak J, Feng X L, *et al.* Prolonged secretion of cortisol as a possible mechanism underlying stress and depressive behaviour. *Sci Rep*, 2016, **6**: 30187
- [65] Qin D, Li Z, Li Z, *et al.* Chronic glucocorticoid exposure induces depression-like phenotype in rhesus macaque (*Macaca mulatta*). *Front Neurosci*, 2019, **13**: 188
- [66] Qin D, Rizak J, Chu X, *et al.* A spontaneous depressive pattern in adult female rhesus macaques. *Sci Rep*, 2015, **5**: 11267
- [67] Qin D, Chu X, Feng X, *et al.* The first observation of seasonal affective disorder symptoms in rhesus macaque. *Behav Brain Res*, 2015, **292**: 463-469
- [68] Coplan J D, Kral J G, Smith E L P, *et al.* Mother-infant interaction in the variable foraging demand model//Squire L R. *Encyclopedia of Neuroscience*. Oxford: Academic Press, 2009: 981-987
- [69] 李鑫. Vertical Chamber 诱导的成年雌性食蟹猴抑郁模型[D]. 重庆: 重庆医科大学, 2012
- Li X. Vertical Chamber Induced Animal Model of Major Depressive Disorder in Sophisticated Adult Female *Macaca fascicularis*[D]. Chongqing: Chongqing Medical University, 2012
- [70] Winship I R, Dursun S M, Baker G B, *et al.* An overview of animal models related to schizophrenia. *Can J Psychiatry*, 2019, **64**(1): 5-17
- [71] Mao P, Cui D, Zhao X D, *et al.* Prefrontal dysfunction and a monkey model of schizophrenia. *Neurosci Bull*, 2015, **31**(2): 235-241
- [72] Ma L, Skoblenick K, Johnston K, *et al.* Ketamine alters lateral prefrontal oscillations in a rule-based working memory task. *J Neurosci*, 2018, **38**(10): 2482-2494
- [73] 吴喆. 苯环己哌啶致食蟹猴 gamma 震荡异常及多巴胺能药物对 gamma 震荡的影响[D]. 昆明: 昆明医科大学, 2017
- Wu Z. Abnormal Gamma Oscillation of MACHINS Induced by Chronic Administration of Phencyclidine and Dopaminergic Effect on Gamma Oscillation[D]. Kunming: Kunming Medical University, 2017
- [74] 陈宁, 孟凡刚, 张建国, 等. 恒河猴颞叶癫痫模型的建立. *中华神经外科杂志*. 2013, **29**(5): 533-537
- Chen N, Meng F G, Zhang J G, *et al.* Chinese Journal of Neurosurgery. 2013, **29**(5): 533-537
- [75] Ge L J, Yang F H, Li W, *et al.* *In vivo* neuroregeneration to treat ischemic stroke through neuroD1 AAV-based gene therapy in adult non-human primates. *Front Cell Dev Biol*, 2020, **8**: 590008
- [76] Liu Z, Cai Y, Liao Z, *et al.* Cloning of a gene-edited macaque monkey by somatic cell nuclear transfer. *Natl Sci Rev*, 2019, **6**(1): 101-108
- [77] Qiu P, Jiang J, Liu Z, *et al.* BMAL1 knockout macaque monkeys display reduced sleep and psychiatric disorders. *Natl Sci Rev*, 2019, **6**(1): 87-100
- [78] Shi L, Luo X, Jiang J, *et al.* Transgenic rhesus monkeys carrying the human MCPH1 gene copies show human-like neoteny of brain development. *Natl Sci Rev*, 2019, **6**(3): 480-493
- [79] Leventhal A G, Wang Y, Pu M, *et al.* GABA and its agonists improved visual cortical function in senescent monkeys. *Science*, 2003, **300**(5620): 812-815
- [80] Hu Y Z, Yang H, Li H, *et al.* Low color temperature artificial lighting can slow myopia development: long-term study using juvenile monkeys. *Zool Res*, 2022, **43**(2): 229-233

Application of Primates in Human Nervous System Diseases Animal Models Research*

LI Yi-Jiang^{1,2)}, XIAO Wen-Xian³⁾, ZHAO Ling^{1,2)}, XIE Li-Fen^{1,2)}, HU Zheng-Fei^{1,2)}, CHEN Jia-Qi^{1,2)},
WEI Jun-Yue^{1,2)}, ZHANG Xiao-Di⁴⁾, LÜ Long-Bao^{1,2,3)**}

⁽¹⁾Laboratory Animal Center, Kunming Institute of Zoology, Chinese Academy of Sciences, Kunming 650223, China;

²⁾National Resource Center for Non-Human Primates, Kunming 650223, China;

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

⁴⁾Shenzhen Institute of Advanced Technology, Chinese Academy of Sciences, Shenzhen 518055, China)

Abstract The biological characteristics of primates, such as genetics, behavior, cognition, physiological, biochemical, are closer to those of humans. The study results from primates are easily applied on human due to having superior brain function structure and neural activity that other experimental animals can't replace. Primates are considered the most ideal animal model for human neurological diseases. Primates are often used to establish neurodegenerative diseases, psychiatric diseases and other diseases animal models, in order to study the pathogenic mechanism, treatment and drug development of above diseases. As a model organism, primates have made irreplaceable contributions to human neuroscience and related medical research. Here we review the recent progress, status, and future prospects and challenges facing the development and deployment of the application of primates in above diseases animal model research.

Key words primates, nervous system diseases, diseases animal models

DOI: 10.16476/j.pibb.2022.0134

* This work was supported by a grant from The National Natural Science Foundation of China (62027812).

** Corresponding author.

Tel: 86-871-65130513, E-mail: lvlongbao@mail.kiz.ac.cn

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