

齐莉莉,刘宏,李剑. 呼吸道合胞病毒感染动物模型的构建与评价 [J]. 中国实验动物学报, 2022, 30(7): 989-995.
Qi LL, Liu H, Li J. Construction and evaluation of animal models of respiratory syncytial virus infection [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2022, 30(7): 989-995.
Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2022.07.015

呼吸道合胞病毒感染动物模型的构建与评价

齐莉莉¹,刘宏²,李剑^{3*}

(1. 河北医科大学教学实验中心,石家庄 050017;2. 河北医科大学第二医院,石家庄 050000;3. 河北医科大学基础医学院,石家庄 050017)

【摘要】 人类呼吸道合胞病毒(human respiratory syncytial virus, hRSV)是在世界范围内引起呼吸道疾病和婴儿住院的主要原因。目前尚无有效的 hRSV 疫苗或治疗药物。针对 hRSV 易感人群的候选疫苗已经处于开发阶段,因此 hRSV 的动物模型在 hRSV 候选疫苗的临床前试验中发挥着重要作用。尽管许多模型在临床前研究中显示了有效性,但很少有模型进入临床试验,或者它们的成功率较低。这在一定程度上是由于缺乏完全重现人类 hRSV 感染发病机制的动物模型。本文分析了 hRSV 动物模型的优点和局限性,包括用 hRSV 感染非人类哺乳动物宿主,以及非人类肺病毒动物模型的研究进展,以期 hRSV 感染动物模型的合理构建提供思路。

【关键词】 呼吸道合胞病毒;动物模型;疫苗;肺损伤

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-4847 (2022) 07-0989-07

Construction and evaluation of animal models of respiratory syncytial virus infection

QI Lili¹, LIU Hong², LI Jian^{3*}

(1. Teaching Experiment Center of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050017, China. 2. the Second Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050000. 3. Basic Medicine College of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050017)
Corresponding author: LI Jian. E-mail: 834036516@qq.com

【Abstract】 Human respiratory syncytial virus (hRSV) is a major cause of respiratory disease and infant hospitalization worldwide. At present, there is no effective hRSV vaccine or therapeutic drug. A candidate vaccine for the hRSV susceptible population is currently being developed, and an animal model of hRSV would therefore play an important role in the preclinical trials of a hRSV candidate vaccine. Although many models have shown effectiveness in preclinical studies, few have entered clinical trials and their success rate has been low. Animal models to date have been unable to fully reproduce the pathogenesis of hRSV infection. Here, we analyze the advantages and limitations of hRSV animal models, including the use of hRSV to infect non-human mammalian hosts and the development of non-human pulmonary virus animal models. The aim of this review is to provide a rational strategy for the construction of an effective animal model of hRSV infection.

【Keywords】 respiratory syncytial virus; animal model; vaccine; lung injury

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

【基金项目】 河北省自然科学基金(C2021206004),河北省高等学校科学技术研究项目(QN2021098),河北省中医药管理局科研计划项目(2021118),河北省大学生创新性实验计划项目(CXSY2020002),河北医科大学“春雨计划”项目(CYCZ2021002)。

Funded by Natural Science Foundation of Hebei Province (C2021206004), Science and Technology Research Project of Hebei Higher Education Institutions (QN2021098), Scientific Research Project of Hebei Traditional Chinese Medicine Administration (2021118), Innovative Experimental Project of Hebei College Students (CXSY2020002), Hebei Medical University “Project Spring Rain” (CYCZ2021002).

【作者简介】 齐莉莉(1983—),女,在读博士研究生,研究方向:病原生物学与免疫学研究。Email:qilili1983@126.com

【通信作者】 李剑(1982—),女,博士,副教授,硕士生导师,研究方向:病原生物学研究。Email:834036516@qq.com

人类呼吸道合胞病毒 (human respiratory syncytial virus, hRSV) 是儿童下呼吸道感染 (lower respiratory tract infection, LRTI) 最常见原因之一, 每年致全球 270 万 ~ 380 万儿童住院, 94 600 ~ 149 400 名 5 岁以下儿童死亡^[1]。尽管病毒抗原变异较少, 但由 hRSV 诱导的免疫持续时间很短, 所以会在整个生命周期内反复感染^[2]。hRSV 疫苗开发的障碍主要有: 自然感染未能防止再感染、接种福尔马林灭活的 hRSV 疫苗 (formalin-inactivated, FI-hRSV) 会使幼儿病情加重^[3], 以及缺乏能完全重现 hRSV 感染发病机制的动物模型等。由于难以在临床前研究中可靠的证明其安全性和有效性, 所以疫苗的开发受到重重阻碍。

除黑猩猩外, 其他非人类灵长类动物仅对 hRSV 复制呈半容许水平, 大剂量病毒的实验性感染只导致轻微的肺部病变。其他动物模型, 如棉鼠、小鼠、雪貂和羔羊, 也只能半容许 hRSV 复制。尽管如此, 棉鼠和小鼠对于开发单克隆抗体, 预防高危婴儿感染 hRSV 具有重要价值, 并为深入了解 hRSV 的发病机制提供了方向^[4]。

对非人类肺炎病毒在其自然宿主中的研究, 例如感染牛呼吸道合胞病毒 (bovine respiratory syncytial virus, bRSV) 的犊牛模型和感染鼠肺炎病毒 (pneumonia virus of mice, PVM) 的小鼠模型^[5-6], 它们不仅在探讨肺炎病毒感染的发病机制中具有价值, 而且还被用于评估 hRSV 疫苗的效果。

1 人类感染 hRSV 的特点

hRSV 主要经空气飞沫或直接接触传播。最初病毒复制发生在鼻咽, 潜伏期 4 ~ 5 d, 随后可传播到下呼吸道。人感染 hRSV 的临床表现可以从普通感冒到毛细支气管炎, 婴儿会出现气道阻塞、缺氧、哮喘和肺炎, 1% ~ 24% 的婴儿会有呼吸暂停^[7]。hRSV 主要在纤毛气道上皮细胞及 I 型和 II 型肺泡细胞中复制。感染 hRSV 重症患者的肺组织病理学变化以细支气管周围和血管周围单核细胞积聚、间质性肺炎、细支气管上皮细胞坏死脱落、巨噬细胞、中性粒细胞、纤维蛋白和粘蛋白阻塞细支气管腔为特征^[8]。毛细支气管炎患儿的支气管肺泡灌洗液 (bronchoalveolar lavage, BAL) 中以中性粒细胞为主, 气道分泌物中含有高水平的促炎细胞因子, 如肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素-6 (IL-6)、白细胞

介素-1 α (IL-1 α)、CXC/CC 趋化因子 (如 IL-8、MIP-1 α 、MCP-1 和 RANTES), 及干扰素 (IFN)、IL-4、IL-5、IL-10、IL-9 和 IL-17^[9], 表明强烈的炎症反应有助于推进 hRSV 致病过程。而不同病毒株本身的特性也可能导致疾病严重程度的变化^[10]。

2 呼吸道合胞病毒感染的动物模型

hRSV 的动物模型包括使用 hRSV 感染非人类哺乳动物的模型, 以及在自然宿主中研究非人类肺病毒的模型。主要使用的非人类哺乳动物有非人类灵长类动物、棉鼠、小鼠和羔羊。除了黑猩猩之外, 这些动物对 hRSV 的复制都是半允许的, 所以在实验中大量病毒复制仅会导致很少甚至无临床症状。相反, 非人类肺病毒的自然宿主对病毒的复制和感染致病是完全允许的。

2.1 非人灵长类动物 (non-human primates, NHP)

2.1.1 黑猩猩

hRSV 最初是从 20 只圈养黑猩猩中分离出来的^[11], 人们后来发现这种病毒不仅能在黑猩猩之间传播, 还能从黑猩猩传播给人。实验室感染 10^4 pfu hRSV 的黑猩猩可以排出大量病毒 (鼻咽拭子样本和 BAL 分别为 10^5 和 10^6 pfu/mL) 并持续 6 ~ 10 d, 这与在儿童身上看到的情况一致^[12]。尽管在实验中感染的黑猩猩未出现下呼吸道感染症状, 但在动物园圈养的黑猩猩和科特迪瓦一个研究站饲养的黑猩猩身上已经报告了 hRSV 相关支气管肺炎的重症病例, 其中一些还合并肺炎链球菌感染^[13-14]。广泛支气管肺炎和间质性肺炎的组织病理学样本中可以检测到 hRSV 抗原, 偶尔出现的合胞体细胞与人类婴儿的病变相似^[13]。肺炎链球菌已经被证明在体外和棉鼠中都能加重气道上皮细胞中 hRSV 的感染^[15]。

黑猩猩已经被用来评估 hRSV 减毒活疫苗的毒力和保护效力^[16]。减毒 hRSV 在黑猩猩体内的复制和遗传稳定性与血清阴性的儿童相似, 而且减毒株能够诱导黑猩猩抵抗随后的野生型 hRSV 攻击^[17]。然而, 接种表达 hRSV 表面糖蛋白 F 和 G 的重组痘苗病毒 (rVV) 的黑猩猩只产生了低水平的中和抗体, 而且对抵抗 hRSV 攻击的保护力很差。这些现象与相同的 rVV 对小鼠、棉鼠和猫头鹰猴几乎完全的保护效力形成了鲜明对比^[18]。

2.1.2 非洲绿猴

为了评估 hRSV 候选疫苗,许多研究选用了半允许 hRSV 复制的非洲绿猴(African green monkeys, AGMs)^[19]。hRSV 感染后,AGMs 仅在肺部出现轻微的组织病理学改变,临床症状不明显^[20]。感染 hRSV 孟菲斯 M37 株的猴子 BAL 中的中性粒细胞比例仅增加到 9%^[21],而中性粒细胞却是 hRSV 感染儿童 BAL 中的主要细胞^[22]。

Kakuk 等^[23]发现,接种 FI-hRSV 的 AGMs 被 hRSV 感染后,会出现疫苗增强的肺部病理改变。接种了福尔马林灭活的单纯疱疹病毒(FI-HSV)的 AGMs,如若感染 hRSV 也会出现增强的组织病理学变化,只是其严重程度低于接种 FI-hRSV 的动物。这些现象表明,对疫苗中存在的细胞培养成分的免疫反应和 hRSV 刺激,可能是 FI-hRSV 接种动物出现增强的病理学改变的原因。

虽然一些 hRSV 疫苗已被证明可诱导小鼠或棉鼠对 hRSV 产生完全的保护作用,但 Eyles 等^[21]用这些疫苗免疫 AGMs,发现其保护效力并不相同。只有在用表达 F 或 G 蛋白的复制缺陷型重组腺病毒(rAdV)初次免疫、纯化的 hRSV F 和 G 蛋白加强接种后,上、下呼吸道才能获得完全保护。以氢氧化铝和 CpG 为佐剂的 F/G 蛋白会使病毒复制显著减少。然而,在接种疫苗的猴子中,没有任何证据表明肺部炎症增强。这些观察结果表明,小动物模型无法预测 hRSV 疫苗在 AGMs 中的效力。

2.1.3 其他 NHP

尽管对 hRSV 半允许复制,许多 NHP 已被用作 hRSV 的感染模型。感染 hRSV 的猫头鹰猴会出现鼻炎,其症状轻于黑猩猩,病毒能够在鼻咽中有效复制 8 ~ 17 d^[24]。猫头鹰猴对 hRSV 减毒活疫苗的反应与黑猩猩相似,治疗性地给予含有病毒中和抗体的人 IgG 可以显著降低肺病毒载量,但肺病理损伤未见改善^[25]。

经气管接种大剂量 hRSV ($10^{7.9}$ pfu) 的幼狒狒会出现 LRTI^[26],BAL 中的病毒滴度在接种后 24 h 达到最大值,随后下降。肺部显示血管充血和水肿,镜下特征为间质性肺炎、细支气管上皮脱落、细支气管管腔阻塞和炎性细胞浸润。病毒抗原主要分布于肺实质,少量散在分布于肺上皮细胞。感染后 24 h BAL 的中性粒细胞迅速增加,第 3 天开始下降,随后巨噬细胞数量上升。人们需要进一步的研

究,以确定肺部炎症反应是病毒复制的结果,还是对高剂量接种物的非特异性炎症反应。

2.2 绵羊

hRSV A2 感染新生羔羊后,会引起轻微发热和咳嗽,肺部主要病理特征是肉眼可见的多灶实变,以及与 hRSV 感染儿童相似的显微镜下病变^[27]。在纤毛支气管上皮细胞和合胞体细胞中可以检测到病毒抗原。感染后第 3 ~ 6 天,BAL 中的病毒 mRNA 从较低水平增加到峰值,并在第 14 天消退。感染高剂量 hRSV M37 的羔羊会出现喘息的症状。从感染第 1 ~ 6 天,羔羊 BAL 中的病毒滴度增加了 100 倍,肺部巨噬细胞、CD4⁺ 和 CD8⁺ 细胞数量增加,IFN- γ 、IL-8、MCP-1、MIP-1 α 和 RANTES 的 mRNA 水平有所增加^[28]。

接种 FI-hRSV 疫苗可预防羔羊感染病毒,并能防止肺组织病变的发展^[29]。接种疫苗后,虽然羔羊会出现广泛的细支气管周围细胞积聚,但其他肺病理损伤显著减少。母源抗体(maternally derived serum antibodies, MDA)可以通过初乳转移到羔羊体内^[30],用 hRSV F 蛋白免疫怀孕母羊,在其血清和初乳中可诱导出高水平的病毒中和抗体。羔羊从接种疫苗的母羊获得初乳,其病毒中和抗体滴度比未接种疫苗的母羊所生羔羊高 50 倍左右。2 ~ 3 日龄的羔羊受到 hRSV 攻击后,与对照组相比,接种疫苗的母羊生出的羔羊肺病毒载量减少了 70%,并且肺病理损伤明显减轻。这些研究表明,母体免疫接种是一种安全有效的方法,可降低 hRSV 对婴幼儿下呼吸道的损伤作用。

2.3 啮齿类动物

2.3.1 棉鼠

虽然棉鼠对病毒复制是半容许的,但它们每次接种病毒的剂量可以比 BALB/c 小鼠高 100 倍,但棉鼠并不出现临床症状^[31]。接种后,病毒在鼻、肺部呈高滴度复制,在气管呈低滴度复制。棉鼠一生都对 hRSV 易感,但病毒在 3 d 龄棉鼠鼻腔中的复制量更大,持续时间也 longer。病毒抗原可以在鼻和肺纤毛上皮细胞中检测到,但在气管中检测不到病毒抗原,hRSV 感染会引起棉鼠肺部 IFN- γ 、IL-10、IL-6、MCP-1 和生长调节癌基因(growth-regulated oncogene, GRO)的 mRNA 增加,并伴有鼻炎和轻度细支气管炎^[32]。在环磷酸胺免疫抑制的棉鼠体内,病毒载量更大,病毒排出时间 longer,而且动物会产

生以泡沫巨噬细胞、支气管和气管内碎片为特征的更严重的炎症反应^[33]。

棉鼠和婴儿血清中的病毒中和抗体水平极为相似。在被动免疫棉鼠的血清中,病毒中和抗体大于 1:380 就具有保护作用,而类似水平的母源抗体能够增强 2 月龄以内人类婴儿对 hRSV 的抵抗力^[34]。棉鼠在单克隆抗体类药物的研发中发挥了重要作用,是一种成熟的 FI-hRSV 疫苗导致疾病加重的动物模型。尽管 FI-hRSV 疫苗减少了 hRSV 的复制,但棉鼠出现了严重的毛细支气管炎、肺炎和间质性肺炎。毛细支气管炎被认为是免疫介导的抵御 hRSV 感染的正常组成部分,而在棉鼠模型中肺炎被认为是疫苗加重疾病的主要标志。然而,FI-hRSV 免疫棉鼠肺炎的严重程度与非病毒抗原特异性 T 细胞的启动有关,同时 hRSV 抗原加重了这种反应^[35]。这些发现表明,在评估人类 hRSV 候选疫苗的安全性时,不能完全套用棉鼠模型的结果。

2.3.2 小鼠

尽管近交系小鼠对 hRSV 的易感性存在差异,但呈现中等易感性的 BALB/c 小鼠已被广泛用于研究 hRSV 的致病机制^[36]。鼻饲接种 hRSV 后,病毒在小鼠的鼻腔和肺部复制。小鼠一生都对 hRSV 易感,但老年鼠比幼年鼠易感性更强^[37]。高剂量的 hRSV (> 10⁶ pfu) 是诱发疾病所必需的,其特征是体重减轻、毛发褶皱和驼背。显微镜下的病变包括血管周围和细支气管周围单核细胞聚集,以及粘液分泌增加。在感染急性期,促炎细胞因子和趋化因子水平升高。小鼠的 CD4⁺ 和 CD8⁺ T 细胞充当了“双刃剑”的角色,即在清除病毒和加重疾病中均发挥作用。缺失 CD4⁺ 或 CD8⁺ T 细胞,都会延长病毒感染时间,但却有利于症状缓解并减轻肺病理损伤^[36]。然而,这些观察结果与免疫抑制人群中出现的长时间排出病毒、严重的呼吸系统疾病和巨细胞肺炎形成了鲜明对比。

FI-hRSV 疫苗导致疾病加重的小鼠模型与引发 Th2 反应有关,其特征是嗜酸性粒细胞增多、大量粘液分泌、体重减轻、气道阻塞、气道高反应性 (airway hyper responsiveness, AHR) 增加以及肺病毒载量减少。当 CD4⁺ 细胞缺失或敲除 IL-4 和 IL-10 时,疫苗加重的病理表现就会消失^[38]。由 FI-hRSV 疫苗诱导的小鼠低亲和力非中和抗体,也被证明有

助于加重 AHR 和肺部病理损伤。正如在其他动物模型中所见,对非病毒抗原的免疫反应会导致接种疫苗的小鼠病变增强。然而,由于小鼠和人类在先天免疫和适应性免疫反应方面存在许多差异^[39],小鼠对疫苗接种的反应可能与高等物种大不相同。例如,表达 hRSV F 或 G 蛋白的重组痘苗病毒可完全保护小鼠免受 hRSV 感染^[16,40],但对猕猴却没有诱导出保护作用^[41]。

一个缺乏功能性 CD8⁺ T 细胞的人源化小鼠模型,在感染 hRSV 10⁶ pfu 时,可导致小鼠体重减轻和肺组织损伤,其病理特征为细支气管周围炎症, BAL 中以中性粒细胞占优势,粘液增多,这与 hRSV 感染的儿童相似。但野生型 BALB/c 感染 hRSV 后, BAL 中性粒细胞的比例仅为 10%^[42]。所以,与普通小鼠相比,人源化小鼠模型可能是评估 hRSV 候选疫苗更适宜的模式。

2.4 非人宿主肺炎病毒的动物模型

2.4.1 bRSV 感染的犍牛模型

在天然宿主中研究非人类肺炎病毒的一个优势是宿主对病毒是完全允许的。bRSV 感染的最高发病率出现在 6 月龄以下的小牛,虽然母源抗体不能保护犍牛免受 bRSV 感染,但呼吸系统疾病的发病率和严重程度与母源抗体水平呈负相关^[43]。感染潜伏期在 2 ~ 5 d,临床症状包括鼻腔分泌物增加、咳嗽、呼吸急促、呼吸困难和发热。bRSV 主要在纤毛气道上皮细胞和肺泡 II 型细胞中复制,并诱导间质性肺炎、上皮坏死、渗出性或增殖性肺炎以及偶见合胞体的显微镜下病变。中性粒细胞、脱落的上皮细胞、巨噬细胞和粘蛋白组成的细胞碎片会阻塞支气管和细支气管^[44]。

bRSV 和 hRSV 在整个基因组的同源性约为 80%,而且对 hRSV 具有特异性的多克隆抗体通常可识别 bRSV 蛋白^[5]。目前犍牛已经被用于 hRSV 疫苗的评估^[45],如 DNA 疫苗、亚单位疫苗、减毒活疫苗、重组病毒载体以及与佐剂混合的灭活 bRSV,并用于确定母源抗体对疫苗接种的影响^[43]。犍牛也可以作为 hRSV 候选疫苗临床前评估的一部分,这些候选疫苗含有 hRSV 和 bRSV 之间保守的蛋白质。例如,用表达 hRSV 融合蛋白 F、N 和 M2-1 的 rAdV 鼻饲接种犍牛,并肌肉接种表达相同抗原的重组痘苗病毒加强免疫,可以使犍牛完全抵御 bRSV 的攻击^[45]。

2.4.2 PVM 感染的小鼠模型

PVM 最初是从小鼠肺组织分离出来的^[46], 实验室小鼠感染 PVM 导致疾病的严重程度取决于病毒剂量、小鼠品系和年龄。BALB/c 鼠对 PVM 易感, 而 C57BL/6 鼠对 PVM 相对抵抗。用小剂量(60~600 pfu) PVM 鼻饲接种 BALB/c 鼠, 病毒能在小鼠肺部复制到较高的滴度并引起严重的临床表现^[6]。病毒复制最初发生在肺泡细胞, 随后在支气管上皮细胞, 并诱导 BAL 嗜酸性粒细胞增加, 随后出现以中性粒细胞增加为主的反应。肺组织病理改变包括肺泡上皮细胞凋亡、支气管上皮坏死、出血和粒细胞浸润。PVM 感染小鼠肺部的促炎趋化因子和细胞因子反应与 hRSV 感染小鼠相似。然而, MIP-1 α 参与 PVM 诱导的炎症反应, 却不能调控 hRSV 诱导的小鼠炎症反应^[47]。这表明肺炎病毒在自然宿主和非自然的、半容许的动物模型中致病机理是存在差异的。

虽然 PVM 小鼠模型的优势在于能够研究自然宿主中的肺病毒感染, 但小鼠和人类之间先天性和适应性免疫反应的许多差异、肺部解剖结构的差异以及病毒蛋白的抗原差异限制了其与人类 hRSV 的相关性。尽管如此, 了解 PVM 的致病机制可以为更高级动物物种的研究提供参考。

3 结语

动物模型的选择必须基于多种因素, 包括方法、试剂的费用和可用性。此外, 在设计动物实验时我们还要考虑其他因素, 如病毒易感性和病毒对宿主免疫防御的适应性, 这也决定了该模型对于理解人类病毒致病机制和免疫机制的适用性。

黑猩猩是唯一对 hRSV 复制完全允许的动物宿主, 允许动物间传播, 但对实验硬件环境及研究经费要求较高; 尽管我们可以使用分子生物学和遗传学方法对小鼠模型进行基因改造, 但仍然无法使 hRSV 完全适应小鼠, 所以小鼠模型与 hRSV 感染的相关性仍存在疑问; 棉鼠更易受到 hRSV 感染, 并提供了上下呼吸道感染的模型, 但目前的瓶颈是: 可用于棉鼠研究的实验工具相对较少。

尽管对大型动物进行实验操作存在实际困难, 但鉴于我们无法使 hRSV 适应啮齿类动物模型, 再加上 hRSV 和 bRSV 的密切关系, 以及病毒传播动力学的相似性, 所以 bRSV 的致病机制和免疫特点

等信息可以转化为治疗 hRSV 感染和疫苗接种的改进策略。那么为了保证病原体的宿主特异性, 明智的做法是利用 bRSV 及犊牛作为研究 hRSV 的基础。此外与啮齿类动物相比, 牛的寿命更长, 因此应该能够研究在数年而不是数周内记忆 B 和 T 细胞群对 bRSV 抗原的反应, 以及疫苗接种对牛寿命的影响。

综上所述, 虽然每一种动物模型都有其适用的范围, 但人们可依据研究目的综合考虑。例如, 在研究 hRSV 疫苗过程中, 研究人员可以首先选择 bRSV 感染的犊牛作为动物模型进行长期的深入探讨, 当获得稳定可靠的试验效果时, 可将动物模型转向 hRSV 感染的黑猩猩, 以评估 hRSV 疫苗的毒力和保护效力, 为接下来临床试验的开展奠定基础。

参 考 文 献 (References)

- [1] Shi T, McAllister DA, O'Brien KL, et al. Global, regional, and national disease burden estimates of acute lower respiratory infections due to respiratory syncytial virus in young children in 2015: a systematic review and modelling study [J]. *Lancet*, 2017, 390(10098): 946-958.
- [2] Pangesti KNA, Abd El Ghany M, Walsh MG, et al. Molecular epidemiology of respiratory syncytial virus [J]. *Rev Med Virol*, 2018, 28(2): 1-11.
- [3] Mejias A, Rodríguez-Fernández R, Oliva S, et al. The journey to a respiratory syncytial virus vaccine [J]. *Ann Allergy Asthma Immunol*, 2020, 125(1): 36-46.
- [4] Altamirano-Lagos MJ, Díaz FE, Mansilla MA, et al. Current animal models for understanding the pathology caused by the respiratory syncytial virus [J]. *Front Microbiol*, 2019, 10: 873.
- [5] Yunus AS, Krishnamurthy S, Pастey MK, et al. Rescue of a bovine respiratory syncytial virus genomic RNA analog by bovine, human and ovine respiratory syncytial viruses confirms the "functional integrity" and "cross-recognition" of bRSV cis-acting elements by hRSV and oRSV [J]. *Arch Virol*, 1999, 144(10): 1977-1990.
- [6] Dyer KD, Garcia-Crespo KE, Glineur S, et al. The pneumonia virus of mice (pvm) model of acute respiratory infection [J]. *Viruses*, 2012, 4(12): 3494-3510.
- [7] Battles MB, McLellan JS. Respiratory syncytial virus entry and how to block it [J]. *Nat Rev Microbiol*, 2019, 17(4): 233-245.
- [8] Pickles RJ, DeVincenzo JP. Respiratory syncytial virus (RSV) and its propensity for causing bronchiolitis [J]. *J Pathol*, 2015, 235(2): 266-276.
- [9] Wiseman DJ, Thwaites RS, Drysdale SB, et al. Immunological and inflammatory biomarkers of susceptibility and severity in adult

- respiratory syncytial virus infections [J]. *J Infect Dis*, 2020, 222(7): S584–S591.
- [10] Thompson TM, Roddam PL, Harrison LM, et al. Viral specific factors contribute to clinical respiratory syncytial virus disease severity differences in infants [J]. *Clin Microbiol*, 2015, 4(3): 206.
- [11] Blount RE Jr, Morris JA, Savage RE. Recovery of cytopathogenic agent from chimpanzees with coryza [J]. *Proc Soc Exp Biol Med*, 1956, 92(3): 544–549.
- [12] Belshe RB, Richardson LS, London WT, et al. Experimental respiratory syncytial virus infection of four species of primates [J]. *J Med Virol*, 1977, 1(3): 157–162.
- [13] Clarke CJ, Watt NJ, Meredith A, et al. Respiratory syncytial virus-associated bronchopneumonia in a young chimpanzee [J]. *J Comp Pathol*, 1994, 110(2): 207–212.
- [14] Unwin S, Chatterton J, Chantrey J. Management of severe respiratory tract disease caused by human respiratory syncytial virus and *Streptococcus pneumoniae* in captive chimpanzees (pan troglodytes) [J]. *J Zoo Wildl Med*, 2013, 44(1): 105–115.
- [15] Nguyen DT, Louwen R, Elberse K, et al. *Streptococcus pneumoniae* enhances human respiratory syncytial virus infection *in vitro* and *in vivo* [J]. *PLoS One*, 2015, 10(5): e0127098.
- [16] Pierantoni A, Esposito ML, Ammendola V, et al. Mucosal delivery of a vectored RSV vaccine is safe and elicits protective immunity in rodents and nonhuman primates [J]. *Mol Ther Methods Clin Dev*, 2015, 2: 15018.
- [17] Karron RA, Buchholz UJ, Collins PL. Live-attenuated respiratory syncytial virus vaccines [J]. *Curr Top Micro Immunol*, 2013, 372: 259–284.
- [18] Collins PL, Purcell RH, London WT, et al. Evaluation in chimpanzees of vaccinia virus recombinants that express the surface glycoproteins of human respiratory syncytial virus [J]. *Vaccine*, 1990, 8(2): 164–168.
- [19] Mackman RL, Hui HC, Perron M, et al. Prodrugs of a 1'-CN-4-Aza-7, 9-dideazaadenosine C-Nucleoside leading to the discovery of remdesivir (GS-5734) as a potent inhibitor of respiratory syncytial virus with efficacy in the african green monkey model of RSV [J]. *J Med Chem*, 2021, 64(8): 5001–5017.
- [20] González-Parra G, Dobrovoly HM. Modeling of fusion inhibitor treatment of RSV in african green monkeys [J]. *J Theor Biol*, 2018, 456: 62–73.
- [21] Eyles JE, Johnson JE, Megati S, et al. Nonreplicating vaccines can protect african green monkeys from the memphis 37 strain of respiratory syncytial virus [J]. *J Infect Dis*, 2013, 208(2): 319–329.
- [22] Green CA, Sande CJ, de Lara C, et al. Humoral and cellular immunity to RSV in infants, children and adults [J]. *Vaccine*, 2018, 36(41): 6183–6190.
- [23] Kakuk TJ, Soike K, Brideau RJ, et al. A human respiratory syncytial virus (RSV) primate model of enhanced pulmonary pathology induced with a formalin-inactivated RSV vaccine but not a recombinant FG subunit vaccine [J]. *J Infect Dis*, 1993, 167(3): 553–561.
- [24] Prince GA, Suffin SC, Prevar DA, et al. Respiratory syncytial virus infection in owl monkeys: viral shedding, immunological response, and associated illness caused by wild-type virus and two temperature-sensitive mutants [J]. *Infect Immun*, 1979, 26(3): 1009–1013.
- [25] Hemming VG, Prince GA, Groothuis JR, et al. Hyperimmune globulins in prevention and treatment of respiratory syncytial virus infections [J]. *Clin Microbiol Rev*, 1995, 8(1): 22–33.
- [26] Ivanov V, Oomens AGP, Papin JF, et al. Intranasal and intrapulmonary vaccination with an m protein-deficient respiratory syncytial virus (RSV) vaccine improves clinical signs and reduces viral replication in infant baboons after an RSV challenge infection [J]. *Vaccine*, 2021, 39(30): 4063–4071.
- [27] Sithicharoenchai P, Alnajjar S, Ackermann MR. A model of respiratory syncytial virus (RSV) infection of infants in newborn lambs [J]. *Cell Tissue Res*, 2020, 380(2): 313–324.
- [28] Larios Mora A, Detalle L, Gallup JM, et al. Delivery of ALX-0171 by inhalation greatly reduces respiratory syncytial virus disease in newborn lambs [J]. *MAbs*, 2018, 10(5): 778–795.
- [29] Ackermann MR. Lamb model of respiratory syncytial virus-associated lung disease: insights to pathogenesis and novel treatments [J]. *ILAR J*, 2014, 55(1): 4–15.
- [30] Garg R, Latimer L, Wang Y, et al. Maternal immunization with respiratory syncytial virus fusion protein formulated with a novel combination adjuvant provides protection from RSV in newborn lambs [J]. *Vaccine*, 2016, 34(2): 261–269.
- [31] Martinez ME, Harder OE, Rosas LE, et al. Pulmonary function analysis in cotton rats after respiratory syncytial virus infection [J]. *PLoS One*, 2020, 15(8): e0237404.
- [32] Wen X, Mo S, Chen S, et al. Pathogenic difference of respiratory syncytial virus infection in cotton rats of different ages [J]. *Microb Pathog*, 2019, 137: 103749.
- [33] Boukhvalova M, Blanco JC, Falsey AR, et al. Treatment with novel RSV ig RI-002 controls viral replication and reduces pulmonary damage in immunocompromised sigmodon hispidus [J]. *Bone Marrow Transplant*, 2016, 51(1): 119–126.
- [34] Blanco JCG, Pletneva LM, McGinnes-Cullen L, et al. Efficacy of a respiratory syncytial virus vaccine candidate in a maternal immunization model [J]. *Nat Commun*, 2018, 9(1): 1904.
- [35] Boukhvalova MS, Yim KC, Blanco J. Cotton rat model for testing vaccines and antivirals against respiratory syncytial virus [J]. *Antivir Chem Chemother*, 2018, 26: 2040206618770518.
- [36] van Erp EA, Lakerveld AJ, Mulder HL, et al. Pathogenesis of respiratory syncytial virus infection in BALB/c mice differs between intratracheal and intranasal inoculation [J]. *Viruses*,

- 2019, 11(6): 508.
- [37] Graham BS, Perkins MD, Wright PF, et al. Primary respiratory syncytial virus infection in mice [J]. *J Med Virol*, 1988, 26(2): 153-162.
- [38] Connors M, Giese NA, Kulkarni AB, et al. Enhanced pulmonary histopathology induced by respiratory syncytial virus (RSV) challenge of formalin-inactivated RSV-immunized BALB/c mice is abrogated by depletion of interleukin-4 (IL-4) and IL-10 [J]. *J Virol*, 1994, 68(8): 5321-5325.
- [39] Mestas J, Hughes CC. Of mice and not men: differences between mouse and human immunology [J]. *J Immunol*, 2004, 172(5): 2731-27318.
- [40] Wyatt LS, Whitehead SS, Venanzi KA, et al. Priming and boosting immunity to respiratory syncytial virus by recombinant replication-defective vaccinia virus MVA [J]. *Vaccine*, 1999, 18(5-6): 392-397.
- [41] de Waal L, Wyatt LS, Yüksel S, et al. Vaccination of infant macaques with a recombinant modified vaccinia virus ankara expressing the respiratory syncytial virus F and G genes does not predispose for immunopathology [J]. *Vaccine*, 2004, 22(8): 923-926.
- [42] Sharma A, Wu W, Sung B, et al. Respiratory syncytial virus (RSV) pulmonary infection in humanized mice induces human anti-RSV immune responses and pathology [J]. *J Virol*, 2016, 90(10): 5068-5074.
- [43] Valarcher JF, Hägglund S, Näslund K, et al. Single-shot vaccines against bovine respiratory syncytial virus (bRSV): comparative evaluation of long-term protection after immunization in the presence of brsv-specific maternal antibodies [J]. *Vaccines (Basel)*, 2021, 9(3): 236.
- [44] Guzman E, Taylor G. Immunology of bovine respiratory syncytial virus in calves [J]. *Mol Immunol*, 2015, 66(1): 48-56.
- [45] Cortjens B, de Jong R, Bonsing JG, et al. Human respiratory syncytial virus infection in the pre-clinical calf model [J]. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis*, 2019, 65: 213-218.
- [46] Horsfall FL, Hahn RG. A latent virus in normal mice capable of producing pneumonia in its natural host [J]. *J Exp Med*, 1940, 71(3): 391-408.
- [47] Watkiss ER, Shrivastava P, Arsic N, et al. Innate and adaptive immune response to pneumonia virus of mice in a resistant and a susceptible mouse strain [J]. *Viruses*, 2013, 5(1): 295-320.

[收稿日期] 2022-01-25