



# 中国非洲猪瘟研究进展

张振江, 孙恩成, 朱远茂, 李芳, 步志高\*, 赵东明\*

中国农业科学院哈尔滨兽医研究所, 动物疫病防控全国重点实验室, 国家非洲猪瘟专业实验室, 哈尔滨 150069

\* 联系人, E-mail: zhaodongming@caas.cn; buzhihao@caas.cn

收稿日期: 2023-08-23; 接受日期: 2023-10-31; 网络版发表日期: 2023-12-13

国家重点研发计划(批准号: 2022YFD1800601, 2022YFD1800604, 2021YFD1800101)和黑龙江省自然科学基金(批准号: LH2022C111)资助

**摘要** 非洲猪瘟(African swine fever, ASF)是由非洲猪瘟病毒(African swine fever virus, ASFV)感染家猪和野猪引起的一种急性、烈性和高度接触性传染病, 可以造成严重经济损失和威胁全球养猪业的发展。根据世界动物卫生组织(World Organisation for Animal Health, WOA)报告, ASF于1921年在肯尼亚被首次报道, 已经在非洲、亚洲、美洲、欧洲和大洋洲等地区暴发, 严重危害全球养猪业的发展。ASF至今已有上百年历史, 目前仍未有可供全球推广使用商业化的疫苗和抗病毒药物; ASFV基因功能、致病机制、免疫保护、免疫逃逸等关键科学问题依然未知。2018年, ASF传入中国, 给中国生猪产业造成严重影响。面向ASF防控和科技攻关重大需求, 中国农业科学院、中国科学院、清华大学等多家科研机构和企业都紧急建立科研队伍, 对ASFV开展了科技攻关, 并取得了丰硕的成果。其中, 中国农业科学院哈尔滨兽医研究所第一时间分离鉴定出第一株ASFV毒株、基因II型自然变异株、基因I型病毒株、基因I型/II型自然重组病毒株, 并完成其基因组遗传进化和致病特性研究; 联合解析了ASFV结构和多种病毒基因功能; 成功研制了ASF基因缺失弱毒活疫苗等多种防控产品, 为中国ASFV的认知及防控做出重要贡献。本文围绕过去五年来中国在ASFV流行病学、病原学、病毒结构生物学、毒力功能基因挖掘、疫苗创制及诊断产品研发等方面的研究进展进行综述, 以期为中国非洲猪瘟防控与研究提供参考。

**关键词** 非洲猪瘟, 分离鉴定, 致病特征, 疫苗, 诊断, 防控

非洲猪瘟(African swine fever, ASF)是由非洲猪瘟病毒(African swine fever virus, ASFV)引起的一种猪的烈性传染病, 死亡率可高达100%, 被世界动物卫生组织(World Organisation for Animal Health, WOA)列为需要通报的动物重大烈性传染病, 被中国列为一类动物疫病。ASFV为非洲猪瘟病毒科(*Asfarviridae*)非洲猪瘟病毒属(*Asfivirus*)唯一成员。根据其B646L基因3'端序列差异, ASFV被分为24个基因型; 所有基因型均存在于非

洲, 而只有基因I型和II型传出非洲, 随后传入欧洲、美洲及亚洲等国家。ASF危害大, 传播途径多样, 自2007年以来在欧亚地区呈快速扩散趋势, 给世界生猪产业带来严重威胁。中国作为世界上生猪养殖与猪肉制品消费第一大国, 2018年以来暴发的ASF疫情给中国经济和社会带来严重影响。过去五年来, 中国在ASF基础和防控研究等方面都取得了不错的进展, 本文围绕这些进展进行综述, 以期为中国ASF防控与研究提供参考。

引用格式: 张振江, 孙恩成, 朱远茂, 等. 中国非洲猪瘟研究进展. 中国科学: 生命科学, 2023, 53: 1767–1779

Zhang Z J, Sun E C, Zhu Y M, et al. Research progress on African swine fever in China (in Chinese). Sci Sin Vitae, 2023, 53: 1767–1779, doi: 10.1360/SSV-2023-0190

## 1 中国非洲猪瘟流行病毒株分离鉴定及致病特征

### 1.1 高致死性基因 II 型 Georgia07 样非洲猪瘟病毒株

自1921年以来, ASF在非洲撒哈拉以南地区持续流行, 2007年首次传入格鲁吉亚, 并迅速蔓延到东欧的高加索地区<sup>[1,2]</sup>。2017年3月, 在俄罗斯远东地区的伊尔库茨克暴发了ASF疫情<sup>[3]</sup>, 虽然当时中国尚未报告ASF, 但周边国家的疫情暴发提高了ASF传入中国的风险。2018年, 周鑫韬等人<sup>[4]</sup>第一时间发现ASF传入中国, 并推测该疾病会对中国生猪养殖业产生重大影响。在疫情发生早期, 中国对ASF的认知有限, 进而对其能否有效防控等问题产生了巨大的心理恐慌。赵东明等人<sup>[5]</sup>及时建立了基于猪原代细胞的ASFV分离及培养系统, 第一时间从黑龙江疫点样品分离出中国第一株非洲猪瘟流行病毒株(HLJ/18)。ASFV *B646L*基因遗传进化分析发现, HLJ/18属于基因 II 型毒株, 与2007年格鲁吉亚早期分离的Georgia/2007/1(Georgia07)和在中国沈阳引起首例ASF病例的病毒ASFV-SY-18具有高度同源性<sup>[4,6,7]</sup>; 文雪霞等人<sup>[8]</sup>利用第一代Sanger测序技术对HLJ/18毒株全基因组进行精细测序, 第一时间获得了精准的全基因组序列信息, 并上传NCBI公共数据库(GenBank: MK333180.1)。对HLJ/18全基因序列分析发现, 与2017年在波兰分离的ASFV(GenBank: MG939588.1)序列具有最高的同源性, 并与Georgia07毒株的序列进行比较, 发现HLJ/18病毒基因组的多个位置发生了核苷酸插入、缺失和突变<sup>[8]</sup>。

ASF的潜伏期因病毒株和猪的品种而异, 根据已发表数据其潜伏期为3~19天<sup>[9~13]</sup>。赵东明等人<sup>[5]</sup>首次明确了疫情早期中国流行毒株感染动物的潜伏期、传播力、致病力和发病特点。动物试验表明, 无特定病原(specific pathogen free, SPF)猪感染HLJ/18后, 3~5天开始出现发病症状, 并于6~9天之间全部死亡, 两只同居猪在第9天出现发病症状, 分别在第13天和第14天死亡, 表明该病毒在SPF猪中潜伏期短、致死率高、传播力强, 为强毒株。研究发现, 该病毒引起的临床症状和剖检变化与一些猪的急性、烈性疾病十分相似, 因此, ASF的诊断不能仅仅依赖发病症状, 而需要特异的分子生物学手段。上述研究为中国早期ASF认知及防控提供了第一手数据<sup>[14]</sup>。

### 1.2 中等毒力基因 II 型自然变异病毒株

ASFV已在中国猪群定殖, 在自然界中持续流行, 流行病学监测对ASF防控具有重要指导意义。2020年, 孙恩成等人<sup>[15]</sup>对中国七个省份的ASFV进行监测, 共分离鉴定了22株毒株, 根据其*B646L*基因遗传进化分析发现, 这些病毒都属于基因 II 型, 与早期分离的HLJ/18毒株相比, 上述毒株部分基因序列发生突变、缺失、插入或短片段替换。*EP402R*基因是影响ASFV毒力的重要基因<sup>[16,17]</sup>, 其编码的CD2v蛋白是ASFV吸附红细胞的重要蛋白<sup>[18]</sup>。其中, 11株病毒的*EP402R*基因出现四种不同类型的自然突变或缺失, 造成其CD2v蛋白不能正常翻译表达。红细胞吸附试验(hemadsorption, HAD)显示, 上述毒株丧失了红细胞吸附活性(non-HAD)<sup>[15]</sup>。

为了进一步明确中国分离的non-HAD毒株的毒力变化, 选择两株具有典型HAD表型的病毒(HuB/628/20和HLJ/44/20)与两株non-HAD的病毒(HLJ/HRB1/20和HeB/Q3/20)进行猪攻毒试验, 结果显示, HuB/628/20和HLJ/44/20对家猪具有高致病性, 与早期分离毒株HLJ/18致病力基本一致; 两株non-HAD的病毒与HLJ/18毒株相比, 对家猪的致病性明显减弱、临床症状减轻, 依然具有明显的毒力残留, 部分感染猪发病死亡, 且依然具有很强的接触传播能力。研究发现, 此类病毒感染后, 能引起部分感染猪的持续性和慢性感染, 感染猪排毒、带毒水平较低, 且无规律, 个体之间的差异较大, 具有很强的隐蔽性, 为ASF早期诊断带来更多挑战。为了实现对此类毒株的有效防控, 国家非洲猪瘟参考实验室制定了《养猪场非洲猪瘟变异株监测技术指南》(索引号: 07B261212202100115, [www.moa.gov.cn](http://www.moa.gov.cn))。随着此类病毒的出现, ASF抗体检测变得尤为重要。为了满足ASF抗体检测需要, 中国动物疫病预防控制中心紧急组织了ASF抗体检测试剂盒的应急评价, 遴选出质量可靠的33个抗体检测产品, 并批准生产应用([www.cadc.net.cn](http://www.cadc.net.cn))。

### 1.3 低致死性基因 I 型欧洲早期分离株NH/P68样病毒株

目前, ASFV根据其*B646L*基因可分为24个基因型<sup>[19]</sup>, 所有基因型在非洲均有分布<sup>[20]</sup>, 但是欧洲主要流行基因 I 型和 II 型<sup>[21,22]</sup>, 而亚洲主要流行基

因 II 型<sup>[5,23]</sup>。1957 年, 基因 I 型 ASFV 首次从非洲外溢至葡萄牙, 随后传播到西班牙、法国、马德拉、意大利、古巴、马耳他、撒丁岛、巴西、多米尼加共和国和海地等国家, 目前除了意大利撒丁岛, 在其余国家均已被消灭<sup>[24]</sup>。在 2021 年之前, 中国尚无基因 I 型 ASFV 的相关报道。孙恩成等人<sup>[25]</sup>在 ASF 监测过程中发现, 某些养殖场发病动物病程较长, 死亡率较低, 还伴随着间歇性发热、体重减轻、慢性皮肤溃疡和关节炎等临床症状。收集临床样品后, 对样品进行检测并证实为 ASFV 核酸阳性, 进一步对其 *B646L* 基因测序分析和比对, 发现该样品为基因 I 型 ASFV。随后, 进行病毒的分离与鉴定, 成功分离到 SD/DY-I/21 和 HeN/ZZ-P1/21 两株病毒。通过全基因组测序以及系统进化分析发现, SD/DY-I/21 和 HeN/ZZ-P1/21 的全基因组序列与 NH/P68<sup>[26]</sup> (GenBank: KM262845) 和 OURT88/3<sup>[27,28]</sup> (GenBank: AM712240) 高度同源, 位于同一进化分枝, 与中国分离的基因 II 型毒株不在同一分枝。NH/P68 和 OURT88/3 分别于 1968 年和 1988 年分离于葡萄牙, 但是在 20 世纪 90 年代已经被成功清除, 此后在现地猪群未曾检测到此类病毒<sup>[22,26,28-30]</sup>。虽然目前基因 I 型 ASFV 在非洲持续流行, 但是基因 I 型欧洲早期分离株 NH/P68 样毒株如何传至中国尚不明确。SD/DY-I/21 和 HeN/ZZ-P1/21 与基因 I 型强毒株 L60<sup>[31]</sup> 和 Benin 97<sup>[32]</sup> 的全基因组相比, 均缺失了 10 个 ORFs, 并有 5 个截短的 ORFs。此外, SD/DY-I/21 和 HeN/ZZ-P1/21 的基因组也存在一些差异, 其中包括 23 个 ORF 中的 32 个核苷酸突变, 4 个 ORF 中的 700 个核苷酸缺失, 3 个 ORF 中的 3 个核苷酸插入, 以及 *MGF\_110-5L* 中一个 22 个核苷酸的替换区域。这些分析表明, 这两株基因 I 型病毒可能具有不同的来源。

用不同剂量的 SD/DY-I/21 感染 SPF 猪, 结果显示与 NH/P68 和 OURT88/3 毒株相似, 该病毒呈现低致病性, 仍具有高效传播能力, 造成慢性持续性感染。ASFV 的 *MGF505/360* 基因能抑制干扰素产生<sup>[33]</sup> 且影响病毒的毒力<sup>[34]</sup>, 同时 *EP402R* 基因与病毒的 HAD 特性和毒力密切相关<sup>[35]</sup>。中国分离的两株基因 I 型病毒与 NH/P68 和 OURT88/3 相似, 均缺失 *MGF505/360* 基因并丧失 HAD 特性, 这些变化可能是分离株呈现低致病性的重要原因。此类病毒与前期分离的中等毒力基因 II 型自然变异病毒相似, 能造成慢性持续性感染, 受感染的猪只出现低水平且无规律的带毒和排毒现象, 且不同

个体在带毒和排毒方面差异较大, 为疫情早期诊断也带来更多困难。

#### 1.4 高致死性非洲猪瘟基因 I 型/II 型重组病毒株

ASFV 已被报道有 24 种基因型, 但是尚不确定不同基因型之间能否发生自然重组。自 2021 年以来, 中国田间出现了基因 I 型和 II 型病毒的共存。2021 年底, 赵东明等人<sup>[36]</sup> 在中国部分区域送检疑似非洲猪瘟阳性样品中分离出三株基因 I 型/II 型重组病毒株, 首次证明 ASFV 在不同基因型之间可以发生自然重组, 产生新的自然重组病毒。对此类病毒进行全基因组序列测定, 并进行了系统的遗传进化分析。全基因组进化树显示, 此类病毒基因组具有 99.97%~99.99% 的同源性, 在遗传进化树上形成一个独立的分支, 位于基因 I 型分支和基因 II 型分支之间; 根据其 *B646L* 基因被鉴定为基因 I 型。与基因 II 型 Georgia07 样病毒 HLJ/18<sup>[5]</sup> 和基因 I 型 NH/P68 样病毒 SD/DY-I/21<sup>[25]</sup> 的基因组进行比较, 根据其特异性单核苷酸多态性 (single nucleotide polymorphisms, SNPs) 位点差异及基因片段相似性 (表 1) 分析发现, 三株重组病毒基因组的 10 个不连续的片段来自基因 II 型 Georgia07 样强毒株, 占比约 56.5%, 涉及 106 个 ORFs; 其余 10 个不连续的片段来自基因 I 型 NH/P68 样毒株, 占比约 43.5%。三株重组病毒的 *EP402R* 基因与基因 II 型 Georgia07 样强毒株相似性为 100%, 都具有 HAD 特性。此外, 三株重组病毒基因组与同源的基因 II 型 Georgia07 样强毒株 HLJ/18 和基因 I 型 NH/P68 样病毒 SD/DY-I/21 片段相比, 部分位置也发生了不同程度的突变、插入和缺失。

SPF 猪试验研究发现, 基因 I 型/II 型重组病毒株 JS/LG/21 对家猪呈现高致死性特性, 且水平传播能力强, 与早期基因 II 型分离强毒株 HLJ/18 相当, 明显不同于前期分离的基因 I 型欧洲早期流行 NH/P68 样弱毒株。此类重组病毒的 20 个毒力相关基因都来自于基因 II 型强毒株, 可能是其毒力增强的重要因素之一<sup>[36]</sup>。

当前中国尚无批准应用的 ASF 疫苗, 通过严密的病原检测及时发现清除传染源, 以及严格的生物安全措施切断传播途径, 仍然是防控 ASF 唯一可行办法。然而基因 I 型/II 型重组病毒的出现将为 ASF 的检测及防控产品研发带来新的挑战。

表 1 基因 I 型/II 型重组病毒基因片段相似性分析

Table 1 Similarity analysis of gene fragments of genotype I and II recombinant viruses

| 编号  | 基因片段   |        | 长度(bp) | 与对应病毒的核苷酸相似性(%)        |                     | 可能的来源   |
|-----|--------|--------|--------|------------------------|---------------------|---------|
|     | 位置     |        |        | SD/DY-I/21<br>(基因 I 型) | HLJ/18<br>(基因 II 型) |         |
|     | 起始     | 终止     |        |                        |                     |         |
| F1  | 1      | 19273  | 19273  | 99.93                  | 71.29               | 基因 I 型  |
| F2  | 19274  | 33248  | 13975  | 27.50                  | 99.99               | 基因 II 型 |
| F3  | 33249  | 59378  | 26130  | 99.99                  | 93.71               | 基因 I 型  |
| F4  | 59379  | 63494  | 4116   | 96.55                  | 100.00              | 基因 II 型 |
| F5  | 63495  | 66708  | 3214   | 100.00                 | 95.41               | 基因 I 型  |
| F6  | 66709  | 77562  | 10854  | 89.57                  | 100.00              | 基因 II 型 |
| F7  | 77563  | 81254  | 3692   | 99.89                  | 97.49               | 基因 I 型  |
| F8  | 81255  | 86883  | 5629   | 97.00                  | 100.00              | 基因 II 型 |
| F9  | 86884  | 102453 | 15570  | 99.36                  | 95.43               | 基因 I 型  |
| F10 | 102454 | 115776 | 13323  | 93.73                  | 100.00              | 基因 II 型 |
| F11 | 115777 | 118739 | 2963   | 100.00                 | 90.15               | 基因 I 型  |
| F12 | 118740 | 128884 | 10145  | 96.03                  | 99.98               | 基因 II 型 |
| F13 | 128885 | 131665 | 2781   | 100.00                 | 98.01               | 基因 I 型  |
| F14 | 131666 | 136729 | 5064   | 98.32                  | 100.00              | 基因 II 型 |
| F15 | 136730 | 137277 | 548    | 100.00                 | 98.91               | 基因 I 型  |
| F16 | 137278 | 140785 | 3508   | 97.97                  | 100.00              | 基因 II 型 |
| F17 | 140786 | 142184 | 1399   | 99.71                  | 99.15               | 基因 I 型  |
| F18 | 142185 | 149814 | 7630   | 97.03                  | 100.00              | 基因 II 型 |
| F19 | 149815 | 154854 | 5040   | 100.00                 | 98.21               | 基因 I 型  |
| F20 | 154855 | 185431 | 30577  | 85.60                  | 99.98               | 基因 II 型 |

2 非洲猪瘟病毒结构解析

ASFV基因组庞大,可编码150多种蛋白质。ASFV与其他核质大DNA病毒基本一致,有相似的结构、基因组和复制特性<sup>[37]</sup>,也是唯一的虫媒DNA病毒<sup>[38]</sup>。虽然ASFV已被发现上百年,但人们对病毒结构及病毒基因功能认知依然不清,严重阻碍了ASF防控产品研发。王男等人<sup>[39]</sup>利用冷冻电子显微镜技术及单颗粒三维重构方法,首次全面解析了ASFV全颗粒的三维精细结构,完整揭示ASFV独有的5层(外囊膜、外衣壳、双层内膜、核心壳层和基因组)结构特征,病毒颗粒包含3万余个蛋白分子,组装成直径约为260纳米的球形颗粒;新鉴定出ASFV多种结构蛋白,搭建了主要衣壳蛋白p72等原子模型,阐明了p72蛋白天然三聚体结构特征,揭示了ASFV多种潜在的保护性抗原和关键抗

原表位信息,阐述了结构蛋白复杂的排列方式和相互作用模式,提出了ASFV组装机制假说。随后,刘升等人<sup>[40]</sup>也解析了ASFV颗粒的三维精细结构,再次证明ASFV衣壳结构分子组装模型的正确性,同时也提出与其他核质大DNA病毒一样,次要衣壳蛋白在外壳下方形成六边形网络,通过将相邻的衣壳“黏合”在一起而起到稳定剂的作用。此外,付丹等人<sup>[41]</sup>解析了ASFV结构蛋白p15晶体结构及其功能研究,发现p15单体结构与成束蛋白高度相似,通过二硫键和静电力的作用形成结构规则的六聚体,证明p15能同时结合病毒膜结构和病毒基因组DNA,并鉴定出p15蛋白上膜结合及DNA结合的各种功能区域。李国邦等人<sup>[42]</sup>发现,p35蛋白采用了一种新颖的折叠结构,与文献报道的结构没有同源性,提示p35结构的解析为探索ASFV起源和进化模式提供帮助。在中性pH环境中,p35蛋白以单体

的形式存在, 而随着环境pH降低, p35蛋白结构发生改变呈现二聚体化, 此现象与正粘病毒基质蛋白相似, 进而提示p35蛋白可能通过构象改变参与ASFV进入和脱衣壳过程<sup>[42]</sup>.

总之, ASFV颗粒的精细结构特征和病毒组装机制假说, 为阐明ASFV入侵宿主细胞以及逃避和对抗宿主抗病毒免疫的机制提供了重要线索, 为ASF疫苗研究及基于p72三聚体蛋白诊断试剂研发奠定了理论基础, 所解析的ASFV是目前世界上解析近原子分辨率结构的最大病毒颗粒, 是病毒学研究的一大突破.

### 3 非洲猪瘟病毒基因功能研究

ASFV是一种线性双链DNA病毒, 其基因组的长度为170~193 kb, 末端为共价闭环, 与末端相连的是串联重复序列和多基因家族(multigene family, MGF), 中间则是较为保守的序列<sup>[43]</sup>. ASFV基因组编码多种参与DNA复制、修复、核苷酸代谢、转录和其他酶活性或宿主免疫逃逸相关的基因<sup>[44]</sup>. 鞠晓辉等人<sup>[45]</sup>分析了ASFV感染猪肺泡巨噬细胞(porcine alveolar macrophages, PAM)的全基因转录组数据, 发现ASFV基因在被感染的PAM中呈现出时间依赖性表达模式, 同时ASFV感染能抑制宿主免疫反应并引发宿主趋化因子和代谢途径失调; 此外, ASFV感染不同于HP-PRRSV感染, 诱导PAM产生独特的转录组谱. 郑宇轩等人<sup>[46]</sup>利用单细胞转录组测序技术, 分析ASFV感染PAM不同时间宿主与病毒之间的关系, 解释了宿主与病毒之间的相互作用及病毒复制调控的宿主细胞信号通路, 同时首次绘制ASFV感染PAM基因表达的全景式图谱.

陈伟业等人<sup>[17]</sup>构建了EP402R基因敲除的ASFV毒株HLJ/18-CD2v-del, 研究发现与亲本株HLJ/18相比, 该毒株对猪只的致病力显著减弱. 黄丽等人<sup>[47]</sup>进一步研究发现, EP402R基因编码蛋白CD2v可以抑制I型干扰素产生, 破坏干扰素信号通路而影响ASFV致病力的分子机制, 为阐明ASFV弱毒株的致弱机制提供参考. ASFV pI215L由ASFV早期基因I215L编码, 该基因在病毒工厂以及受感染细胞的整个细胞核和细胞质中表达<sup>[48]</sup>, 同时与泛素结合酶(E2)家族具有很高的同源性<sup>[49]</sup>. 黄丽等人<sup>[50]</sup>研究发现, pI215L蛋白表达水平降低, 可以增强I型干扰素的产生并抑制ASFV的复

制, 其研究结果提供了一条新线索来解释ASFV如何逃避宿主的抗病毒免疫反应.

ASFV pH240R是一个衣壳蛋白<sup>[39]</sup>, 由240个氨基酸组成, 其功能目前尚不清晰. 研究发现, pH240R能够影响病毒粒子的组装从而降低子代病毒粒子的感染性<sup>[51]</sup>; pH240R与STING的N末端跨膜结构域相互作用, 抑制其从内质网到高尔基体的寡聚化和易位; pH240R抑制IRF3和TBK1的磷酸化, 抑制I型干扰素的产生, 从而降低IFN- $\alpha$ 的抗病毒作用, 以增强病毒复制<sup>[52]</sup>; pH240R既能够与NF- $\kappa$ B信号通路中的重要信号分子NEMO相互作用抑制IL-1 $\beta$ 前体的转录, 又能够与NLRP3相互作用抑制NLRP3炎症小体的活化, 最终抑制IL-1 $\beta$ 的成熟与分泌. 动物试验结果表明, H240R基因是ASFV的关键毒力基因, 通过抑制炎症反应影响ASFV致病力<sup>[53,54]</sup>.

MGF505-7R是MGF多基因家族中的一员, 李江南等人<sup>[55]</sup>解释了pMGF505-7R与IKK复合物中的IKK $\alpha$ 相互作用以抑制NF- $\kappa$ B活化并与NLRP3结合以抑制炎性小体形成, 从而导致IL-1 $\beta$ 产生减少. 此外, pMGF505-7R与IRF3的相互作用并抑制IRF3的核易位, 从而阻断I型干扰素的产生. ASFV- $\Delta$ 7R与其亲本ASFV HLJ/18毒株相比, 其在仔猪体内中的毒力降低, 研究结果为了解ASFV pMGF505-7R的功能及其在病毒感染的致病机制提供了新线索, 为抗病毒药物或减毒活疫苗研究提供理论基础.

pE199L在ASFV感染的晚期表达<sup>[56]</sup>, 并且与ASFV的进入和细胞自噬有关<sup>[57,58]</sup>. 李婷等人<sup>[59]</sup>发现, E199L蛋白可以诱导线粒体依赖性细胞凋亡, 为全面了解ASFV发病机制提供了新的线索. A137R在ASFV Georgia2010毒株缺失后可以抵御亲本毒株的攻击, 同时该基因是一个晚期表达基因<sup>[60]</sup>. 孙茂文等人<sup>[61]</sup>对ASFV pA137R研究发现, 该蛋白通过自噬介导的溶酶体途径以剂量依赖性方式与TBK1相互作用并降解TBK1, 来抑制cGAS-STING介导的IFN- $\beta$ 信号通路, 从而抑制IRF3核易位.

ASFV pS273R属于SUMO-1特异性蛋白酶家族, 参与pp220和pp62多蛋白前体裂解和成熟<sup>[62]</sup>. ASFV pS273R以一种依赖于其蛋白酶活性的方式切割宿主的细胞焦亡执行蛋白(Gasdermin D, GSDMD), 进而破坏GSDMD-N<sub>1-279</sub>介导的细胞焦亡<sup>[63]</sup>, 同时还发现该蛋白通过切割成核蛋白G3BP1来抵抗应激颗粒的形成,

从而促进病毒复制<sup>[64]</sup>。

pA104R由A104R基因编码并翻译成104个氨基酸的多肽,与细菌HU/IHF家族成员具有序列和功能相似性,对病毒复制至关重要<sup>[65]</sup>。刘瑞丽等人<sup>[66]</sup>研究发现,二苯乙烯衍生物SD1和SD4可以破坏pA104R-DNA结合并抑制ASFV在PAM中的复制,这为ASFV控制提供了新思路。ASFV UK基因位于基因组的右侧可变区,同时该基因也是一个毒力基因<sup>[67,68]</sup>。Teklue等人<sup>[69]</sup>对ASFV EP402R和UK基因缺失后进行动物试验,结果显示能够在猪体内引发保护性免疫反应来抵御亲本毒株的攻击。

## 4 非洲猪瘟防控产品研究

### 4.1 非洲猪瘟疫苗研究

中国是全球生猪养殖和猪肉消费第一大国。生猪产业是中国畜牧业经济的支柱产业,生猪产业健康发展关系中国畜牧业安全、农民增收,以及经济和社会稳定发展。ASF传入中国,给生猪产业带来重创,同时给中国经济和社会健康发展带来严重影响。

安全有效的疫苗免疫是疫病防控最有效和最经济的手段,但由于ASFV基因组庞大,结构复杂,编码蛋白大多功能未知,其致病与免疫机制不清,所以至今仍无可推广使用的商品化疫苗。ASFV强毒感染耐过猪可抵御同源强毒的再次感染,提示疫苗预防ASF具有理论可行性。科学家尝试了灭活疫苗<sup>[70]</sup>、亚单位疫苗<sup>[71]</sup>、重组载体疫苗<sup>[72]</sup>等策略,均未取得理想效果;自然分离或细胞传代获得的低毒力株可对同源强毒攻击提供较好保护,但存在致弱不充分、遗传不稳定、引起慢性感染病程、毒力返强等风险<sup>[73]</sup>。靶向缺失毒力基因构建弱毒疫苗,是ASF疫苗研发最有希望获得突破的技术路线。

多个研究团队都尝试开展了基因缺失弱毒疫苗研究(表2),其结果表明,DP71L<sup>[74]</sup>、B119L<sup>[75]</sup>、DP96R<sup>[76]</sup>、DPI48R<sup>[32]</sup>、EP402R<sup>[16]</sup>、MGF360/505<sup>[34,77]</sup>、9GL<sup>[68]</sup>和UK<sup>[67]</sup>等是ASFV的毒力基因,对这些基因进行单个或者联合缺失,获得的基因缺失株致病力显著降低,且能够诱导针对同源强毒攻击的良好免疫保护。ASF作为一类病,其疫苗的安全性尤为重要。然而当前缺乏针对这些候选弱毒株的系统性安全评价,包括候选毒株的毒力残留、遗传稳定性、毒力返强等。Borca团队

发现,缺失I177L基因的Georgia07株可抵抗同源强毒致死攻击<sup>[78]</sup>;毒力返强试验进一步证实,该毒株有较高的毒力返强风险(表2)<sup>[79]</sup>。缺失MGF360/505区域六个基因(MGF505-1R, MGF360-12L, MGF360-13L, MGF360-14L, MGF505-2R和MGF505-3R)Georgia07株(ASFV-G-ΔMGF)能抵抗同源强毒株的致死攻击<sup>[34]</sup>。但Deutschmann等人<sup>[80]</sup>研究发现,ASFV-G-ΔMGF在猪体内连续传代,具有毒力返强的趋势;随着传代次数增加,接种猪出现了短暂的发热症状,且病毒在体内复制水平显著增强(表2)。上述两种疫苗株都已在越南被批准使用<sup>[81]</sup>。

中国多家研究单位都基于中国ASFV流行株开展基因缺失疫苗研究,构建多株基因缺失病毒。实验室研究初步证明,部分基因缺失株具有较好的安全性和有效性<sup>[17,69,82,83]</sup>。陈伟业等人<sup>[17]</sup>研究发现,HLJ/18-6GD(缺失MGF360/505区域六个基因)和HLJ/18-7GD(在HLJ/18-6GD基础上缺失EP402R基因)都能诱导针对同源强毒攻击的良好免疫保护;但毒力返强试验发现,HLJ/18-6GD在猪体内连续传代具有毒力返强的风险,而HLJ/18-7GD连续传代毒力不返强,传代第三次时在体内各组织脏器已经检测不到(表2)。值得注意的是,ASFV-G-ΔMGF与HLJ/18-6GD缺失相同的基因,且两个不同的实验室都先后证实了此类基因缺失具有潜在的毒力返强风险(表2)<sup>[17,80]</sup>。陈伟业等人<sup>[17]</sup>经系统的实验室研究证明,ASF候选疫苗HLJ/18-7GD株安全不致病、遗传稳定不返强、攻毒存活保护效力达80%以上,且突破了ASF弱毒活疫苗规模化生产瓶颈,建立了稳定、可靠的大生产工艺,制定了产品质量标准,并完成了GMP条件下的产品中试。按照农业农村部批准方案,开展并完成了该候选疫苗的农业转基因生物安全评价中间试验、环境释放和生产性试验,开展并完成了田间临床试验。14000多头商品育肥猪和229头能繁母猪的田间试验结果进一步证明,ASF弱毒疫苗候选株(HLJ/18-7GD)具有良好的安全性和有效性,为中国ASF防控提供可选技术方案<sup>[81]</sup>。

基因I型/II型重组病毒最早于2021年在江苏来源的样品中发现,随后2022年在河南和内蒙古来源样品中检出<sup>[36]</sup>。此类重组病毒在全国范围不断流行与扩散,截至2023年11月,已在至少21个省区被检出,且检出比例陡增,已成为优势流行毒株。赵东明等人<sup>[36]</sup>评价了HLJ/18-7GD对基因I型/II型重组病毒(JS/LG/

表 2 基因缺失株和自然分离弱毒株作为候选疫苗研究进展  
Table 2 Research progress on gene deletion strains and naturally isolated low virulent strains as vaccine candidates

| 病毒名称               | 亲本<br>(基因型)         | 免疫                                                                       |                         |                                                               |      | 攻毒                                                                                    |                 | 保护效果                               | 文献      |
|--------------------|---------------------|--------------------------------------------------------------------------|-------------------------|---------------------------------------------------------------|------|---------------------------------------------------------------------------------------|-----------------|------------------------------------|---------|
|                    |                     | 剂量                                                                       | 临床症状                    | 病毒血症                                                          | 毒力返强 | 剂量                                                                                    | 疫苗毒血症           |                                    |         |
| HLJ/18-7GD         | HLJ/18(II)          | 10 <sup>5</sup> TCID <sub>50</sub>                                       | 无                       | 无                                                             | 无    | 10 <sup>2.5</sup> HAD <sub>50</sub> 肌注或<br>10 <sup>6.5</sup> HAD <sub>50</sub> 口服     | 无               | 100%同源保护                           | [17]    |
| HLJ/18-6GD         | HLJ/18(II)          | 10 <sup>5</sup> TCID <sub>50</sub>                                       | 无                       | 无                                                             | 风险高  | 10 <sup>2.5</sup> HAD <sub>50</sub> 肌注                                                | 无               | 100%同源保护                           | [17]    |
| ASFV-G-ΔMGF        | Georgia07(II)       | 10 <sup>2</sup> , 10 <sup>4</sup> HAD <sub>50</sub>                      | 无                       | 10 <sup>2~</sup><br>10 <sup>5</sup> HAD <sub>50</sub> /mL     | 风险高  | 10 <sup>3</sup> HAD <sub>50</sub> 肌注                                                  | 80%~100%<br>猪阳性 | 100%同源保护                           | [34,80] |
| ASFV-G-Δ9GL        | Georgia07(II)       | 10 <sup>2</sup> , 10 <sup>3</sup> HAD <sub>50</sub>                      | 无                       | 10 <sup>3~</sup><br>10 <sup>7</sup> HAD <sub>50</sub> /mL     | 未验证  | 10 <sup>3</sup> HAD <sub>50</sub> 肌注                                                  | 所有猪             | 100%同源保护                           | [75]    |
| Georgia07-Δ9GL& UK | Georgia2007<br>(II) | 10 <sup>4</sup> , 10 <sup>6</sup> HAD <sub>50</sub>                      | 无                       | 10 <sup>3~</sup><br>10 <sup>7</sup> HAD <sub>50</sub> /mL     | 未验证  | 10 <sup>3</sup> HAD <sub>50</sub> 肌注                                                  | 所有猪             | 100%同源保护                           | [68]    |
| ASFV-G-ΔI177L      | Georgia07(II)       | 10 <sup>2</sup> , 10 <sup>4</sup> ,<br>10 <sup>6</sup> HAD <sub>50</sub> | 无                       | 10 <sup>1.8~</sup><br>10 <sup>7.5</sup> HAD <sub>50</sub> /mL | 风险高  | 10 <sup>2</sup> HAD <sub>50</sub> 肌注                                                  | 持续攻毒后<br>21天    | 100%同源保护                           | [78,79] |
| Benin-ΔMGF         | Benin 97/1<br>(I)   | 10 <sup>4</sup> TCID <sub>50</sub>                                       | 发热                      | 10 <sup>2~</sup> 10 <sup>6</sup> 拷贝/mL                        | 未验证  | 10 <sup>4</sup> TCID <sub>50</sub> 肌注                                                 | 未检测             | 小于83%同源<br>保护                      | [77]    |
| BA71-ΔCD2v         | BA71(I)             | 3.3×10 <sup>4</sup> ,<br>10 <sup>6</sup> PFU                             | 发热                      | 10 <sup>4~</sup> 10 <sup>5</sup> 拷贝/mL                        | 未验证  | 10 <sup>3</sup> HAD <sub>50</sub> 肌注                                                  | 无               | 100%同源和<br>异源保护                    | [16]    |
| Benin-ADP148R      | Benin 97/1<br>(I)   | 10 <sup>3</sup> HAD <sub>50</sub><br>肌注、滴鼻                               | 发热,嗜睡,<br>食欲减退          | 10 <sup>2~</sup> 10 <sup>6</sup> 拷贝/mL                        | 未验证  | 10 <sup>4</sup> HAD <sub>50</sub> 肌注                                                  | 无               | 肌注, 100%同<br>源保护; 滴鼻,<br>80%保护     | [32]    |
| NH/P68-ΔA238L      | NH/P68(I)           | 10 <sup>6</sup> TCID <sub>50</sub>                                       | 发热,皮肤坏<br>死,关节肿胀        | 有                                                             | 未验证  | 同源, 10 <sup>5</sup> HAD <sub>50</sub><br>肌注; 异源, 10 <sup>1</sup><br>HAD <sub>50</sub> | 无               | 100%同源保护,<br>异源不保护                 | [30]    |
| NH/P68             | NH/P68(I)           | 5×10 <sup>6</sup> CPE <sub>50</sub>                                      | 发热, 47%猪<br>有慢性临床表<br>现 | 有                                                             | 未验证  | 5×10 <sup>6</sup> CPE <sub>50</sub> 肌注                                                | 未检测             | 100%同源保护                           | [26]    |
| OURT88/3           | OURT88/3<br>(I)     | 10 <sup>3</sup> , 10 <sup>4</sup> TCID <sub>50</sub><br>肌注、滴鼻            | 发热                      | 有                                                             | 未验证  | 10 <sup>4</sup> TCID <sub>50</sub>                                                    | ND              | 同源保护, 肌<br>注, 50%~66%;<br>滴鼻, 100% | [27,28] |

21)的免疫保护效果; 结果发现, HLJ/18-7GD对基因 I 型/II 型重组病毒不保护, 攻毒后免疫猪体温升高, 10天内全部死亡, 与对照组无明显差异. 因此, 基因 I 型/II 型重组病毒的出现与流行, 给中国ASF疫苗研制带来新的挑战.

4.2 非洲猪瘟病毒诊断技术研究

2018年8月, ASF首次传入中国, 给中国养猪及相关行业造成严重的经济损失. 在疫情早期, ASFV核酸检测在ASF防控中发挥重要作用. 疫情之前, 由于中国没有ASFV, 因此缺乏商品化的诊断产品. 按照农业农村部畜牧兽医局要求, 中国动物疫病预防控制中心积极组织开展了两次ASF现场快速检测试剂评价工作, 第一时间遴选出一批质量可靠的ASF现场快速检测试剂盒. 在此过程中, 中国农业科学院哈尔滨兽医研究所(哈兽研)发挥国家非洲猪瘟专业实验室的职能, 协助完成了比对试验所需样品盘制备工作. 其中, 哈兽研

与哈尔滨维科生物技术有限公司联合研发的“非洲猪瘟病毒荧光定量PCR检测试剂盒”、与哈尔滨国生生物科技股份有限公司联合研发的“非洲猪瘟病毒荧光PCR检测试剂盒”和“非洲猪瘟病毒抗原检测试纸条”都顺利通过应急评价, 获得生产销售许可. 随着自然变异弱毒株的出现, ASFV抗体检测变得势在必行. 按照农业农村部畜牧兽医局要求, 中国动物疫病预防控制中心积极组织开展了ASFV抗体检测试剂盒评价工作, 遴选出33个具有良好的特异性和敏感性的ASFV抗体检测试剂盒. 其中哈兽研与哈尔滨维科生物技术有限公司联合研发的“非洲猪瘟病毒ELISA抗体检测试剂盒”、与洛阳普泰生物技术有限公司联合研发的“非洲猪瘟病毒双抗原夹心ELISA抗体检测试剂盒”和“非洲猪瘟病毒ELISA抗体检测试剂盒”都顺利通过应急评价, 获得生产销售许可. 截至2023年6月, 哈兽研与洛阳普泰生物有限公司联合研发的“非洲猪瘟病毒ELISA抗体检测试剂盒”已获得国家二类新兽药注册证书

((2022)新兽药证字17号), 与哈尔滨国生生物科技股份有限公司联合研发的“非洲猪瘟病毒荧光PCR检测试剂盒”和“非洲猪瘟病毒荧光PCR检测试剂盒(免提取)”分别获得农业农村部公告第409号和第561号批准。上述ASF检测试剂的批准使用为中国非洲猪瘟防控提供重要技术支撑。

此外, Tsegay等人<sup>[84]</sup>新鉴定出一种具有高度免疫原性的ASFV P22蛋白, 并基于P22蛋白制备单克隆抗体, 建立了一种能检测基因 I 型和 II 型非洲猪瘟病毒抗体的阻断ELISA(blocking enzyme-linked immunosorbent assay, bELISA)方法。该方法敏感、特异且重复性好, 比商用的非洲猪瘟病毒P72抗体ELISA检测试剂盒检出抗体时间更早、更准确。王婉等人<sup>[85]</sup>制备了野猪肾细胞, 简称BK2258, ASFV在BK2258中能良好增殖, 病毒滴度可达 $10^{7.0}$  TCID<sub>50</sub>/mL以上, 可形成明显的细胞病变, 特征为细胞集聚、收缩、裂解, 最终形成噬斑。基于BK2258, 建立了检测ASFV抗体的IFA(immunofluorescence assay)方法。该IFA与ASFV阳性血清反应可见明亮的成簇的特异性绿色荧光灶, 非常易于观察, 与ASFV阴性血清不反应, 且未见细胞衰老或其他致细胞损伤因素导致的非特异性绿色荧光, 有利于结果的判定。基因 I 型和基因 II 毒株感染猪抗体转阳时间IFA检测较间接ELISA早1~4天; 同一份ASFV抗体阳性血清样品IFA效价为1:25600, 间接ELISA效价为1:6400, 表明IFA与ELISA相比具有更高的敏感性。IFA与常见的猪重要病原抗体阳性血清无交叉反应, 表明该方法同时具有高度特异性。该IFA检测方法为ASF血清确诊及不同血清学诊断方法对比提供了金标准。

随着中国基因 I 型病毒的出现, 区分基因 I 型和基因 II 型感染变得越加需要, 丁蕾蕾等人<sup>[86]</sup>通过比对126株基因 I 型和 II 型ASFV的B646L基因C端用于基因分型的碱基序列, 发现了四个SNP位点, 利用突变阻滞扩增系统(amplification refractory mutation system, ARMS)和qPCR技术开发了一种双重ARMS-qPCR方法。该方法与常见的几种病原无交叉反应, 具有较高的特异性。能够稳定的检测含有10个拷贝数的基因 I 型和 II 型ASFV B646L基因的标准品质粒, 敏感性较好。组间和组内变异系数均小于2.2%, 显示具有良好的可重复性。ARMS-qPCR方法可成功鉴别诊断血液、口腔和直肠拭子、组织和细胞培养物等36个基因 I 型和 II 型ASFV感染样本, 与WOAH推荐的qPCR方法检测结果一致。

## 5 展望

ASF疫情给全球主要流行国家造成了严重的危害和巨大的经济损失。中国是世界上最大的生猪养殖国、生猪进口国和生猪消费国, 所以防控ASF疫情在保障民生和社会经济方面显得十分重要。ASF在中国流行已经5年有余, 虽然中国在ASF流行病学、基础研究和防控产品等方面开展了大量的研究, 取得了一定研究进展。但中国ASF疫情走向依然复杂, 防控ASF仍然任重道远。已在田间检测和分离出不同种类的ASFV, 包括基因 II 型强毒株、基因 II 型中等毒力自然变异毒株、基因 I 型欧洲同源弱毒株和基因 I 型/II 型重组强毒株(图1); 这给中国ASF防控带来了新的挑战, 也给防控产品研究带来更大难度。ASF流行病学监测工作是发现和认知ASFV流行毒株的唯一手段, 亟需持续性大范围展开。

ASF已有上百年的历史, 目前仍未有商品化的疫苗和抗病毒药物。ASF防控是一项复杂的系统工程, 根除净化是终极目标, 但也将是一个漫长的道路。回顾中国乃至全球动物烈性传染病的防控经验, 结合中国生猪产业实际情况, 严格的生物安全防控措施联合安全

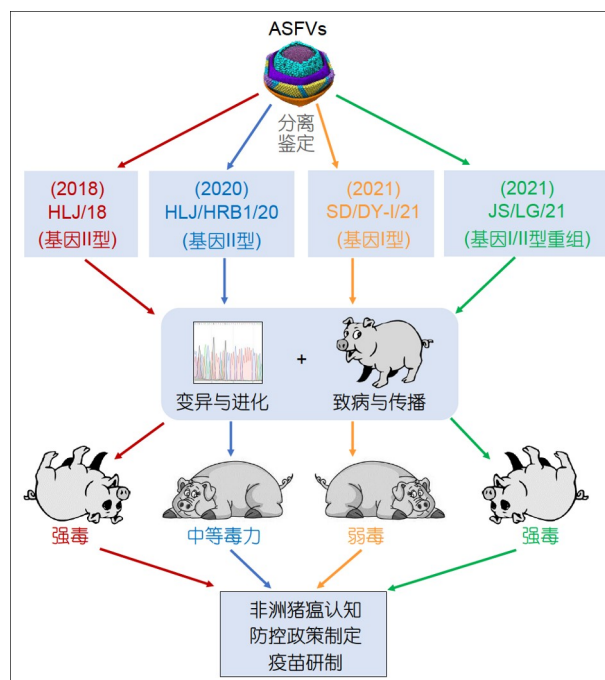


图1 中国ASFV分离鉴定及致病特征

Figure 1 Isolation, identification and pathogenic characteristics of ASFV in China

有效的防控产品是做好中国ASF防控的最经济有效的方式. 因此, 研制安全有效的ASF疫苗是当前ASF防控的重大需求. 系统阐明病毒基因功能、病毒免疫保护和免疫逃逸机制等关键科学问题将为ASF疫苗研制提

供重要理论基础. 在国家的大力支持下, 提高生物安全和风险防范意识, 依靠科技、依法联防联控, 落实分区防控各项措施, 做到经费、人员与制度保障, 相信中国ASF根除净化必将早日实现.

## 参考文献

- Muangkram Y, Sukmak M, Wajjwalku W. Phylogeographic analysis of African swine fever virus based on the *p72* gene sequence. *Genet Mol Res*, 2015, 14: 4566–4574
- Penrith M L, Vosloo W, Jori F, et al. African swine fever virus eradication in Africa. *Virus Res*, 2013, 173: 228–246
- Kolbasov D, Titov I, Tsybanov S, et al. African swine fever virus, Siberia, Russia, 2017. *Emerg Infect Dis*, 2018, 24: 796–798
- Zhou X, Li N, Luo Y, et al. Emergence of African swine fever in China, 2018. *Transbound Emerg Dis*, 2018, 65: 1482–1484
- Zhao D, Liu R, Zhang X, et al. Replication and virulence in pigs of the first African swine fever virus isolated in China. *Emerg Microbes Infect*, 2019, 8: 438–447
- Ge S, Li J, Fan X, et al. Molecular characterization of African swine fever virus, China, 2018. *Emerg Infect Dis*, 2018, 24: 2131–2133
- Guinat C, Gubbins S, Vergne T, et al. Experimental pig-to-pig transmission dynamics for African swine fever virus, Georgia 2007/1 strain. *Epidemiol Infect*, 2016, 144: 25–34
- Wen X, He X, Zhang X, et al. Genome sequences derived from pig and dried blood pig feed samples provide important insights into the transmission of African swine fever virus in China in 2018. *Emerg Microbes Infect*, 2019, 8: 303–306
- Pietschmann J, Guinat C, Beer M, et al. Course and transmission characteristics of oral low-dose infection of domestic pigs and European wild boar with a Caucasian African swine fever virus isolate. *Arch Virol*, 2015, 160: 1657–1667
- de Carvalho Ferreira H C, Weesendorp E, Quak S, et al. Quantification of airborne African swine fever virus after experimental infection. *Vet Microbiol*, 2013, 165: 243–251
- Iglesias I, Muñoz M J, Montes F, et al. Reproductive ratio for the local spread of African swine fever in Wild Boars in the Russian Federation. *Transbound Emerg Dis*, 2016, 63: e237–e245
- Gulenkin V M, Korennoy F I, Karaulov A K, et al. Cartographical analysis of African swine fever outbreaks in the territory of the Russian Federation and computer modeling of the basic reproduction ratio. *Prev Vet Med*, 2011, 102: 167–174
- Guinat C, Reis A, Netherton C L, et al. Dynamics of African swine fever virus shedding and excretion in domestic pigs infected by intramuscular inoculation and contact transmission. *Vet Res*, 2014, 45: 93
- Mallapaty S. Spread of deadly pig virus in China hastens vaccine research. *Nature*, 2019, 569: 13–14
- Sun E, Zhang Z, Wang Z, et al. Emergence and prevalence of naturally occurring lower virulent African swine fever viruses in domestic pigs in China in 2020. *Sci China Life Sci*, 2021, 64: 752–765
- Monteagudo P L, Lacasta A, López E, et al. BA71ΔCD2: a new recombinant live attenuated African swine fever virus with cross-protective capabilities. *J Virol*, 2017, 9: e01058-17
- Chen W, Zhao D, He X, et al. A seven-gene-deleted African swine fever virus is safe and effective as a live attenuated vaccine in pigs. *Sci China Life Sci*, 2020, 63: 623–634
- Borca M V, Kutish G F, Afonso C L, et al. An African swine fever virus gene with similarity to the T-lymphocyte surface antigen CD2 mediates hemadsorption. *Virology*, 1994, 199: 463–468
- Penrith M, Bastos A D, Etter E M C, et al. Epidemiology of African swine fever in Africa today: Sylvatic cycle versus socio-economic imperatives. *Transbound Emerg Dis*, 2019, 66: 672–686
- Quembo C J, Jori F, Vosloo W, et al. Genetic characterization of African swine fever virus isolates from soft ticks at the wildlife/domestic interface in Mozambique and identification of a novel genotype. *Transbound Emerg Dis*, 2018, 65: 420–431
- Costard S, Wieland B, de Glanville W, et al. African swine fever: how can global spread be prevented? *Phil Trans R Soc B*, 2009, 364: 2683–2696
- Cwynar P, Stojkov J, Wlazlak K. African swine fever status in Europe. *Viruses*, 2019, 11: 310

- 23 Gao L, Sun X, Yang H, et al. Epidemic situation and control measures of African Swine Fever Outbreaks in China 2018–2020. [Transbound Emerg Dis](#), 2021, 68: 2676–2686
- 24 Desmecht D, Gerbier G, Gortázar Schmidt C, et al. Epidemiological analysis of African swine fever in the European Union (September 2019 to August 2020). [EFSA J](#), 2021, 19: e06572
- 25 Sun E, Huang L, Zhang X, et al. Genotype I African swine fever viruses emerged in domestic pigs in China and caused chronic infection. [Emerg Microbes Infect](#), 2021, 10: 2183–2193
- 26 Leitão A, Cartaxeiro C, Coelho R, et al. The non-haemadsorbing African swine fever virus isolate ASFV/NH/P68 provides a model for defining the protective anti-virus immune response. [J Gen Virol](#), 2001, 82: 513–523
- 27 Sánchez-Córdón P J, Chapman D, Jabbar T, et al. Different routes and doses influence protection in pigs immunised with the naturally attenuated African swine fever virus isolate OURT88/3. [Antivir Res](#), 2017, 138: 1–8
- 28 Boinas F S, Hutchings G H, Dixon L K, et al. Characterization of pathogenic and non-pathogenic African swine fever virus isolates from *Ornithodoros erraticus* inhabiting pig premises in Portugal. [J Gen Virol](#), 2004, 85: 2177–2187
- 29 Gallardo C, Soler A, Nieto R, et al. Experimental transmission of African swine fever (ASF) low virulent isolate NH/P68 by surviving pigs. [Transbound Emerg Dis](#), 2015, 62: 612–622
- 30 Gallardo C, Sánchez E G, Pérez-Núñez D, et al. African swine fever virus (ASFV) protection mediated by NH/P68 and NH/P68 recombinant live-attenuated viruses. [Vaccine](#), 2018, 36: 2694–2704
- 31 Portugal R, Coelho J, Höper D, et al. Related strains of African swine fever virus with different virulence: genome comparison and analysis. [J Gen Virol](#), 2015, 96: 408–419
- 32 Reis A L, Goatley L C, Jabbar T, et al. Deletion of the African swine fever virus gene *DP148R* does not reduce virus replication in culture but reduces virus virulence in pigs and induces high levels of protection against challenge. [J Virol](#), 2017, 91: e01428-17
- 33 Golding J P, Goatley L, Goodbourn S, et al. Sensitivity of African swine fever virus to type I interferon is linked to genes within multigene families 360 and 505. [Virology](#), 2016, 493: 154–161
- 34 O'donnell V, Holinka L G, Gladue D P, et al. African swine fever virus Georgia isolate harboring deletions of *MGF360* and *MGF505* genes is attenuated in swine and confers protection against challenge with virulent parental virus. [J Virol](#), 2015, 89: 6048–6056
- 35 Gallardo C, Soler A, Rodze I, et al. Attenuated and non-haemadsorbing (non-HAD) genotype II African swine fever virus (ASFV) isolated in Europe, Latvia 2017. [Transbound Emerg Dis](#), 2019, 66: 1399–1404
- 36 Zhao D, Sun E, Huang L, et al. Highly lethal genotype I and II recombinant African swine fever viruses detected in pigs. [Nat Commun](#), 2023, 14: 3096
- 37 Iyer L M, Aravind L, Koonin E V. Common origin of four diverse families of large eukaryotic DNA viruses. [J Virol](#), 2001, 75: 11720–11734
- 38 Tabarés E, Marcotegui M A, Fernández M, et al. Proteins specified by African swine fever virus. [Arch Virol](#), 1980, 66: 107–117
- 39 Wang N, Zhao D, Wang J, et al. Architecture of African swine fever virus and implications for viral assembly. [Science](#), 2019, 366: 640–644
- 40 Liu S, Luo Y, Wang Y, et al. Cryo-EM structure of the African swine fever virus. [Cell Host Microbe](#), 2019, 26: 836–843.e3
- 41 Fu D, Zhao D, Zhang W, et al. Structure of African swine fever virus p15 reveals its dual role for membrane-association and DNA binding. [Protein Cell](#), 2020, 11: 606–612
- 42 Li G, Fu D, Zhang G, et al. Crystal structure of the African swine fever virus structural protein p35 reveals its role for core shell assembly. [Protein Cell](#), 2020, 11: 600–605
- 43 Malogolovkin A, Kolbasov D. Genetic and antigenic diversity of African swine fever virus. [Virus Res](#), 2019, 271: 197673
- 44 Dixon L K, Chapman D A G, Netherton C L, et al. African swine fever virus replication and genomics. [Virus Res](#), 2013, 173: 3–14
- 45 Ju X, Li F, Li J, et al. Genome-wide transcriptomic analysis of highly virulent African swine fever virus infection reveals complex and unique virus host interaction. [Vet Microbiol](#), 2021, 261: 109211
- 46 Zheng Y, Li S, Li S H, et al. Transcriptome profiling in swine macrophages infected with African swine fever virus at single-cell resolution. [Proc Natl Acad Sci USA](#), 2022, 119: e2201288119
- 47 Huang L, Chen W, Liu H, et al. African swine fever virus HLJ/18 CD2v suppresses type I IFN production and IFN-stimulated genes expression through negatively regulating cGMP-AMP synthase-STING and IFN signaling pathways. [J Immunol](#), 2023, 210: 1338–1350
- 48 Freitas F B, Frouco G, Martins C, et al. African swine fever virus encodes for an E2-ubiquitin conjugating enzyme that is mono- and di-ubiquitinated and required for viral replication cycle. [Sci Rep](#), 2018, 8: 3471

- 49 Rodríguez J M, Salas M L, Viñuela E. Genes homologous to ubiquitin-conjugating proteins and eukaryotic transcription factor SII in African swine fever virus. *Virology*, 1992, 186: 40–52
- 50 Huang L, Xu W, Liu H, et al. African swine fever virus pI215L negatively regulates cGAS-STING signaling pathway through recruiting RNF138 to inhibit K63-linked ubiquitination of TBK1. *J Immunol*, 2021, 207: 2754–2769
- 51 Zhou P, Li L F, Zhang K, et al. Deletion of the *H240R* gene of African swine fever virus decreases infectious progeny virus production due to aberrant virion morphogenesis and enhances inflammatory cytokine expression in porcine macrophages. *J Virol*, 2022, 96: e0166721
- 52 Ye G, Liu H, Liu X, et al. African swine fever virus H240R protein inhibits the production of type I interferon through disrupting the oligomerization of STING. *J Virol*, 2023, 97: e00577-23
- 53 Zhou P, Dai J, Zhang K, et al. The H240R protein of African swine fever virus inhibits interleukin 1 $\beta$  production by inhibiting NEMO expression and NLRP3 oligomerization. *J Virol*, 2022, 96: e0095422
- 54 Huang L, Liu H, Ye G, et al. Deletion of African swine fever virus (ASFV) *H240R* gene attenuates the virulence of ASFV by enhancing NLRP3-mediated inflammatory responses. *J Virol*, 2023, 97: e0122722
- 55 Li J, Song J, Kang L, et al. pMGF505-7R determines pathogenicity of African swine fever virus infection by inhibiting IL-1 $\beta$  and type I IFN production. *PLoS Pathog*, 2021, 17: e1009733
- 56 Sun H, Jenson J, Dixon L K, et al. Characterization of the African swine fever virion protein j18L. *J Gen Virol*, 1996, 77: 941–946
- 57 Chen S, Zhang X, Nie Y, et al. African swine fever virus protein E199L promotes cell autophagy through the interaction of PYCR2. *Virol Sin*, 2021, 36: 196–206
- 58 Matamoros T, Alejo A, Rodríguez J M, et al. African swine fever virus protein pE199L mediates virus entry by enabling membrane fusion and core penetration. *mBio*, 2020, 11: e00789-20
- 59 Li T, Zhao G, Zhang T, et al. African swine fever virus pE199L induces mitochondrial-dependent apoptosis. *Viruses*, 2021, 13: 2240
- 60 Gladue D P, Ramirez-Medina E, Vuono E, et al. Deletion of the *A137R* gene from the pandemic strain of African swine fever virus attenuates the strain and offers protection against the virulent pandemic virus. *J Virol*, 2021, 95: e0113921
- 61 Sun M, Yu S, Ge H, et al. The A137R protein of African swine fever virus inhibits type I interferon production via the autophagy-mediated lysosomal degradation of TBK1. *J Virol*, 2022, 96: e0195721
- 62 Andrés G, Alejo A, Simón-Mateo C, et al. African swine fever virus protease, a new viral member of the SUMO-1-specific protease family. *J Biol Chem*, 2001, 276: 780–787
- 63 Zhao G, Li T, Liu X, et al. African swine fever virus cysteine protease pS273R inhibits pyroptosis by noncanonically cleaving gasdermin D. *J Biol Chem*, 2022, 298: 101480
- 64 Li T, Li X, Wang X, et al. African swine fever virus pS273R antagonizes stress granule formation by cleaving the nucleating protein G3BP1 to facilitate viral replication. *J Biol Chem*, 2023, 299: 104844
- 65 Neilan J G, Lu Z, Kutish G F, et al. An African swine fever virus gene with similarity to bacterial DNA binding proteins, bacterial integration host factors, and the *Bacillus* phage SPO1 transcription factor, TF1. *Nucl Acids Res*, 1993, 21: 1496
- 66 Liu R, Sun Y, Chai Y, et al. The structural basis of African swine fever virus pA104R binding to DNA and its inhibition by stilbene derivatives. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2020, 117: 11000–11009
- 67 Zsak L, Caler E, Lu Z, et al. A nonessential African swine fever virus gene *UK* is a significant virulence determinant in domestic swine. *J Virol*, 1998, 72: 1028–1035
- 68 O'donnell V, Risatti G R, Holinka L G, et al. Simultaneous deletion of the *9GL* and *UK* genes from the African swine fever virus Georgia 2007 isolate offers increased safety and protection against homologous challenge. *J Virol*, 2017, 91: e01760-16
- 69 Teklue T, Wang T, Luo Y, et al. Generation and evaluation of an African swine fever virus mutant with deletion of the *CD2v* and *UK* genes. *Vaccines*, 2020, 8: 763
- 70 Sánchez E G, Pérez-Núñez D, Revilla Y. Development of vaccines against African swine fever virus. *Virus Res*, 2019, 265: 150–155
- 71 Sunwoo S Y, Pérez-Núñez D, Morozov I, et al. DNA-protein vaccination strategy does not protect from challenge with African swine fever virus Armenia 2007 strain. *Vaccines*, 2019, 7: 12
- 72 Murgia M V, Mogler M, Certoma A, et al. Evaluation of an African swine fever (ASF) vaccine strategy incorporating priming with an alphavirus-expressed antigen followed by boosting with attenuated ASF virus. *Arch Virol*, 2019, 164: 359–370
- 73 Arias M, de la Torre A, Dixon L, et al. Approaches and perspectives for development of African swine fever virus vaccines. *Vaccines*, 2017, 5: 35

- 74 Zsak L, Lu Z, Kutish G F, et al. An African swine fever virus virulence-associated gene *NL-S* with similarity to the herpes simplex virus *ICP34.5* gene. *J Virol*, 1996, 70: 8865–8871
- 75 O'donnell V, Holinka L G, Krug P W, et al. African swine fever virus Georgia 2007 with a deletion of virulence-associated gene *9GL (B119L)*, when administered at low doses, leads to virus attenuation in swine and induces an effective protection against homologous challenge. *J Virol*, 2015, 89: 8556–8566
- 76 Lopez E, Bosch-Camós L, Ramirez-Medina E, et al. Deletion mutants of the attenuated recombinant ASF virus, BA71ΔCD2, show decreased vaccine efficacy. *Viruses*, 2021, 13: 1678
- 77 Reis A L, Abrams C C, Goatley L C, et al. Deletion of African swine fever virus interferon inhibitors from the genome of a virulent isolate reduces virulence in domestic pigs and induces a protective response. *Vaccine*, 2016, 34: 4698–4705
- 78 Borca M V, Ramirez-Medina E, Silva E, et al. Development of a highly effective African swine fever virus vaccine by deletion of the *I177L* gene results in sterile immunity against the current epidemic Eurasia strain. *J Virol*, 2020, 94: e02017-19
- 79 Tran X H, Phuong L T T, Huy N Q, et al. Evaluation of the safety profile of the ASFV vaccine candidate ASFV-G-ΔI177L. *Viruses*, 2022, 14: 896
- 80 Deutschmann P, Forth J H, Sehl-Ewert J, et al. Assessment of African swine fever vaccine candidate ASFV-G-ΔMGF in a reversion to virulence study. *NPJ Vaccines*, 2023, 8: 78
- 81 Han N, Qu H, Xu T, et al. Summary of the current status of African swine fever vaccine development in China. *Vaccines*, 2023, 11: 762
- 82 Li D, Yang W, Li L, et al. African swine fever virus MGF-505-7R negatively regulates cGAS-STING-mediated signaling pathway. *J Immunol*, 2021, 206: 1844–1857
- 83 Zhang K, Yang B, Shen C, et al. MGF360-9L is a major virulence factor associated with the African swine fever virus by antagonizing the JAK/STAT signaling pathway. *mBio*, 2022, 13: e0233021
- 84 Tsegay G, Tesfagaber W, Zhu Y, et al. Novel P22-monoclonal antibody based blocking ELISA for the detection of African swine fever virus antibodies in serum. *Biosaf Health*, 2022, 4: 234–243
- 85 Wang W, Zhang Z, Tesfagaber W, et al. Establishment of an indirect immunofluorescence assay for the detection of African swine fever virus antibodies1. *J Integr Agr*, 2023, doi: 10.1016/j.jia.2023.05.021
- 86 Ding L, Ren T, Huang L, et al. Developing a duplex ARMS-qPCR method to differentiate genotype I and II African swine fever viruses based on their *B646L* genes. *J Integr Agr*, 2023, 22: 1603–1607

## Research progress on African swine fever in China

ZHANG ZhenJiang, SUN EnCheng, ZHU YuanMao, LI Fang, BU ZhiGao & ZHAO DongMing

*State Key Laboratory for Animal Disease Control and Prevention, National African Swine Fever Para-reference Laboratory, Harbin Veterinary Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Harbin 150069, China*

African swine fever (ASF), an acute, highly contagious disease of domestic pigs and wild boars, is caused by the African swine fever virus (ASFV). It can cause serious economic losses, and threaten the global pig industry. According to the World Organisation for Animal Health, ASF was first reported in Kenya in 1921, and has caused outbreaks in Africa, Asia, the Americas, Europe, and Oceania. ASF has a history of more than 100 years, yet there are no commercially available ASF vaccines or antiviral drugs. The key scientific questions such as the function of the viral genes, pathogenic mechanism, and immune protection and escape remain unknown. In 2018, ASF invaded China and seriously impacted China's pig industry. To meet the needs of ASF prevention and control, several scientific research institutions, including the Chinese Academy of Agricultural Sciences, the Chinese Academy of Sciences, and Tsinghua University, urgently established research teams to combat ASFV, and have made great progress. Among them, the Harbin Veterinary Research Institute of the Chinese Academy of Agricultural Sciences isolated and identified the first ASFV isolate, genotype II natural variant, genotype I virus, and genotype I natural recombinant, and analyzed their genomic evolution and pathogenicity. The structure of ASFV and the functions of its viral genes were resolved. Moreover, many products for ASF prevention and control such as a gene-deleted live vaccine have been developed, contributing to ASF awareness and prevention in China. In this article, the research progress in epidemiology, etiology, viral structural biology, virulence functional gene mining, vaccine creation and diagnostic product development of ASFV in China in the past five years was reviewed, in order to provide a reference for the prevention and control of ASF in China.

**African swine fever, isolation and identification, pathogenesis, vaccines, diagnosis, prevention and control**

doi: [10.1360/SSV-2023-0190](https://doi.org/10.1360/SSV-2023-0190)