



猪瘟兔化弱毒疫苗(C株): 历史、现状和未来

孙元, 李永锋, 仇华吉*

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, 哈尔滨 150069

* 联系人, E-mail: qihuaji@caas.cn

收稿日期: 2023-08-10; 接受日期: 2023-11-06; 网络版发表日期: 2023-12-13

猪瘟兔化弱毒疫苗(C株)是中国老一辈科学家在20世纪50年代创制的一株举世闻名的猪瘟疫苗。该疫苗对中国乃至世界范围内猪瘟的防控发挥了举足轻重的作用, 具有重要影响^[1]。目前, 该疫苗仍在广泛应用。

猪瘟(classical swine fever, CSF)过去称为猪霍乱, 是由猪瘟病毒(classical swine fever virus, CSFV)引起的严重危害养猪业的重要疫病, 是世界动物卫生组织(World Organisation for Animal Health, WOAH)规定的须申报的疫病^[2]。该病以发病急、持续高热、全身广泛性出血和白细胞减少为主要特征, 发病率和死亡率高。猪(包括家猪和野猪)是唯一的易感宿主^[3]。

1833年猪瘟在美国俄亥俄州首次暴发。1862年该病从美国传至英格兰, 1887年从英格兰传播至欧洲大陆。南美洲和南非分别于1899年和1900年首次出现猪瘟。1909年日本报道了亚洲的首起猪瘟病例。1903年确定该病原体是猪瘟病毒。关于猪瘟在中国的起源无确切记载, 但是东南大学从1925年开始便研制免疫血清来防治该病^[4]。

1 大协作造就卓越的猪瘟兔化弱毒疫苗

对于动物用疫苗研发来说, 首先考虑的是灭活疫苗, 因为灭活疫苗的研制相对容易。1945年科研人员在河北石家庄分离出了目前用于猪瘟疫苗效力评价的

标准强毒石门株。马闻天、金惠昌等人^[4]于1947年开始着手主持研制猪瘟结晶紫灭活疫苗。新中国成立后, 何正礼等(1951年), 方时杰、李继庚等(1951年), 李崇道等(1952年)和胡祥璧等(1953年)相继报道了不同毒株的猪瘟结晶紫灭活疫苗。这些灭活疫苗在全国范围内的推广应用在当时的猪瘟防控中发挥了一定的作用^[1,4]。

由于猪瘟灭活疫苗有很多不足, 比如免疫效果差, 诱导免疫保护所需的时间长、成本高和易散毒等问题^[1,4], 科学家们转向了弱毒活疫苗的研究。

美国和英国等于20世纪40年代率先开始了猪瘟弱毒疫苗的研制。但早期培育的疫苗株对猪仍有毒力, 接种后副反应严重, 母猪出现流产和死胎, 所以没有得到广泛推广。

中国猪瘟弱毒疫苗的研究始于1950年, 当时中国农业科学院哈尔滨兽医研究所(哈兽研)从国外引进了一株候选猪瘟兔化弱毒疫苗株, 但此疫苗株对猪有一定的致病性。引进后, 袁庆志、刘宇山和李维义等人利用家兔将该毒株快速传代至110代, 此时的毒株对猪只的致病力明显减弱。接种猪只后, 仅个别猪出现轻微体温反应, 但不引起怀孕母猪死胎或流产, 不同品种、年龄的猪只均可免疫使用。在免疫3天后即可诱导坚强的免疫力, 免疫保护效力达100%^[1]。

1956年, 由于全国猪瘟防控的需要, 根据农业部

引用格式: 孙元, 李永锋, 仇华吉. 猪瘟兔化弱毒疫苗(C株): 历史、现状和未来. 中国科学: 生命科学, 2023, 65: 1825–1830

Sun Y, Li Y F, Qiu H J. The history, present and future of the lapinized vaccine C-strain against classical swine fever (in Chinese). Sci Sin Vitae, 2023, 65: 1825–1830, doi: [10.1360/SSV-2023-0176](https://doi.org/10.1360/SSV-2023-0176)

(现称农业农村部)指示, 哈兽研将该弱毒株正式移交给中国兽医药品监察所(中监所)。经过几年坚持不懈的努力, 中监所的周泰冲、方时杰和李继庚等人将该毒株在兔体上又连续传了240多代(毒株在兔体上传一代至少3~4天)。毒株在家兔体上传代期间, 老一辈科学家们开展了猪体评价试验, 最终选育出一株能充分适应家兔且对所有日龄猪只均安全、有效的疫苗株。大量试验结果表明, 该疫苗具有非常高的安全性和良好的免疫原性, 免疫后4天即可诱导保护反应, 且免疫持续期较长, 一次免疫可达1年以上。1959年以后, 该疫苗在全国范围内大面积推广应用。

猪瘟兔化弱毒疫苗是中国兽医科学研究成果的经典之作, 至今仍然领先, 未被全世界的其他猪病疫苗所超越。该疫苗于1983年获国家发明一等奖, 主要完成人员有中监所的方时杰、周泰冲、李继庚、窦焕斋、张麦岐、胡嘉骥、周长令、盛其庆, 农牧渔业部畜牧局的陈凌风, 以及哈兽研的袁庆志、刘宇山、李维义(图1)。

最初猪瘟兔化弱毒疫苗的生产是在家兔上进行的, 后来疫苗的生产工艺进行了不断的优化。优化大致经历了3个阶段: 第一阶段是用动物组织生产, 第二阶段是用动物原代细胞生产, 第三阶段是用传代细胞系结合生物反应器技术生产(表1)。

2 C株的安全性和免疫效力全面碾压国外同类疫苗

20世纪40~50年代, 国际上有三个弱毒疫苗株, 包括美国的ROVAC, MCV和英国的SFA, 这些疫苗均有严重的副反应, 如接种后猪只的死亡率为6%左右, 接种母猪后可引起死胎和流产, 而且免疫时要与抗血清同时注射, 操作复杂, 效果不佳^[1,4]。日本于1969年经猪睾丸细胞、牛睾丸细胞和豚鼠肾细胞反复传代研制出低温适应温敏疫苗株GPE⁻, 法国于1972年代经PK15细胞长期低温传代(170代)培育出了弱毒疫苗Thiverval株, 这两种疫苗更为安全有效, 但生产工艺复杂, 产量有限。其中GPE⁻株用豚鼠肾细胞生产, Thiverval株则用牛胚胎生产, 同时这两个国家很早就实施了猪瘟扑灭计划, 因此这些疫苗的使用范围比较有限^[5,6]。

C株疫苗具有非常高的安全性, 接种猪后不引起死亡以及怀孕母猪流产, 对不同品种、各种年龄的猪

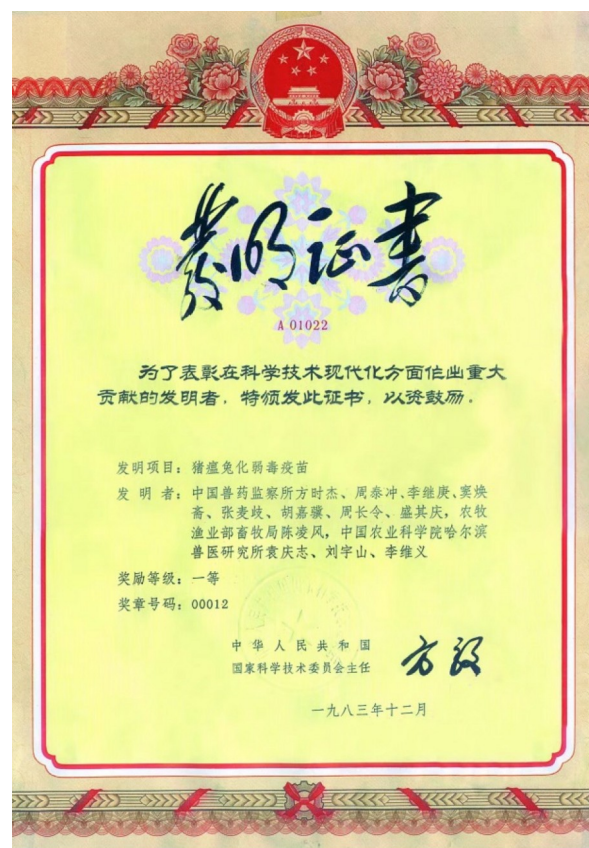


图1 猪瘟兔化弱毒疫苗研究于1983年获得国家发明一等奖
Figure 1 Research that led to the lapinized Chinese strain of classical swine fever virus won the first prize of State Invention Award in 1983

只均可使用。C株经匈牙利、意大利、波兰、罗马尼亚、捷克斯洛伐克、保加利亚、法国、比利时、德国、秘鲁等国家应用后, 结果表明该疫苗优于美国的ROVAC, MCV和英国的SFA^[7]。C株免疫猪在使用免疫抑制剂的情况下, 也不发病或死亡, 而在同样条件下, 使用欧美弱毒疫苗可引起5%~70%的死亡^[8~10]。

经过国内外数十年广泛的应用及大量的科学验证, 证实C株疫苗的免疫保护效力非常优良。无论采用何种毒株进行攻毒, C株疫苗均能提供完全的免疫保护, 并且最早可在免疫后3天提供保护。此时还未能检测到中和抗体, 表明细胞免疫应答在早期的保护中发挥了关键的作用^[11~17]。C株疫苗的免疫保护期比较长, 大约持续6~18个月。不同类型及来源的C株疫苗的最小免疫剂量也不尽相同, 其中淋巴结毒为 $10^4 \sim 10^5$ TCID₅₀, 兔脾毒为 10^5 TCID₅₀, 血毒为 $10^2 \sim 10^3$ TCID₅₀^[1,3,18]。

表 1 中国C株疫苗生产工艺发展阶段

Table 1 Development stages of production technology for C-strain vaccine in China

研发阶段	时间	主要内容	备注
采用动物组织生产疫苗	1957年	用家兔的淋巴结和脾脏制备疫苗	每只家兔制备的疫苗可免疫300头猪
	1964年	将猪瘟兔化弱毒株接种乳兔, 研制成功乳兔苗	每只乳兔制备的疫苗可免疫1500头猪
	1965年	利用犊牛增殖猪瘟兔化弱毒, 制造出牛体反应疫苗	每头牛可制造20万头份疫苗
采用动物原代细胞生产疫苗	1974年	采用原代猪肾细胞成功培养猪瘟兔化弱毒, 并用于疫苗生产	
	1980年	研制成功了绵羊肾细胞苗	
	1982年	研制成功了奶山羊肾细胞苗	
	1985年	研制成功了犊牛睾丸细胞苗	
	1985年	在全国推广使用犊牛睾丸原代细胞生产的猪瘟兔化弱毒疫苗, 一直使用至今	
采用传代细胞系结合生物反应器生产疫苗	2004年	利用猪睾丸传代细胞系(ST细胞系)生产猪瘟兔化弱毒疫苗, 同时利用生物反应器代替转瓶培养细胞获得成功	中国兽医药品监察所和广东永顺生物制药有限公司研制
	2008年	农业部批准在部分养猪大省推广使用	
	2014年	在全国范围推广使用	

C株疫苗之所以保护效果良好, 是因为其既可诱导体液免疫反应, 也可诱导细胞免疫。在免疫早期没有检测到中和抗体的情况下, 即可对CSFV的攻击提供一定的保护。C株疫苗免疫后6天, 在猪的外周血中即可检测到CSFV特异性分泌 γ -干扰素的细胞, 这是诱导细胞免疫应答的重要标志。C株疫苗免疫后1周可检测到体液免疫应答的产生。研究证实, 中和抗体的滴度与攻毒保护效果之间具有一定的相关性^[19,20]。当中和抗体滴度超过1:12.5时, 能够抵抗致死性CSFV强毒的攻击; 当中和抗体滴度超过1:32时, 则能够完全阻止猪只排毒, 使病毒不能传播至周围的猪只^[20]。

CSFV只有1个血清型, 但可分为3个基因群和11个基因亚群, C株属于1.1基因亚群。研究证实, C株疫苗免疫后可对不同基因亚群的强毒株提供完全的免疫保护。中监所曾用不同时间、地点分离的不同基因亚群和不同毒力的毒株进行单独、混合、一次、多次或交叉攻毒, 结果接种猪均能得到完全保护^[21,22], 包括在中国主要流行的2.1和2.2基因亚群及局部流行的2.3和1.1基因亚群, 并且对引起慢性猪瘟的2.2基因亚群中等毒力毒株也能提供免疫保护^[16,20,23~25]。

3 C株飘洋过海, 蜚声全球

20世纪50年代, 新中国刚刚成立, 百废待兴。在当时的国际形势下, 中国迫切需要在各方面加强与社会

主义国家的交流和合作, 因此中国政府于1958年将C株疫苗种毒无偿赠送给当时来访的社会主义友好国家匈牙利(图2和3), 又相继赠送给朝鲜、苏联、罗马尼亚、保加利亚、越南等友邦。由于建国初期中国知识产权保护意识缺乏, 没有申请相应的国际发明专利, 使得C株疫苗迅速流失到西方国家并在国际上广泛使用, 给中国造成了极大的经济损失。

为了区别国外其他的猪瘟弱毒疫苗株, 中国的猪瘟弱毒疫苗株被称为“LC株”(lapinized Chinese strain)或C株。C株因其具有非常高的安全性和免疫效力, 在世界各国得到了广泛的应用, 对猪瘟的防控和净化起到了关键作用^[1,3]。例如, 法国、荷兰、意大利等国的科学家分别将C株适应于绵羊肾细胞、猪肾细胞系SK6、小型猪肾细胞系MPK, 分别获得了CL株, Cedipest和MPK-LC-HCV。这些源于C株的不同疫苗株的免疫效力均非常高, 无残余毒力, 不返强, 也不排毒。在1976年联合国粮农组织和欧共体召开的会议上, 专家们对C株疫苗给予了高度的评价, 一致认为C株的应用对控制和消灭欧洲的猪瘟做出了重大贡献。经过了70多年的风雨洗礼, C株疫苗的地位和价值至今仍无可动摇。

4 对C株的深入研究和挖掘利用

C株是疫苗研究史上的经典之作, 蕴藏着极大的科学价值, 对C株的进一步研究、挖掘和利用是科技



图 2 哈兽研授权赠送给匈牙利的C株疫苗种毒信息
Figure 2 Information on the C-strain vaccine authorized to be gifted to Hungary by Harbin Veterinary Research Institute

工作者的使命. 随着生物学技术的发展, 在2000年前后完成了C株病毒的全基因组测序, 其基因组全长为12310 bp. 与其亲本病毒石门株相比, C株的一个显著特点是在基因组3'非编码区含有一段13个T连续碱基的插入序列, 这可能是病毒在适应家兔的过程中形成的^[1~3]. 随着C株基因组全长cDNA克隆的构建, 建立了CSFV的反向遗传操作系统^[26], 将病毒的体外转录本转染靶细胞, 成功获得了亲本病毒^[27], 从而开启了对C株更深层次的研究, 如致病机制、家兔适应机制及作为疫苗载体的挖掘利用等. 哈兽研在这些方面进行了全面系统的研究, 取得了丰富的成果. 例如, 谢利豹等人^[28]揭示了C株适应家兔的分子机制, 发现C株适应家兔和猪体致弱具有不同的分子基础; 李永锋等人^[29]发现, C株特有的糖基化修饰在病毒致弱和免疫保护中发挥重要



图 3 袁庆志等老一辈科学家与来访的匈牙利友人合影(袁庆志(左三)、Prof. Mészáros(左五)、胡祥璧(右五)、周盛文(右二))
Figure 3 A group photo of Chinese scientists led by Prof. Qingzhi Yuan with a visiting Hungarian friend (Qingzhi Yuan, third from the left; Prof. Mészáros, fifth from the left; Xiangbi Hu, fifth from the right; Shengwen Zhou, second from the right)

作用; 张玲楷等人^[30]将C株开发为病毒载体, 构建了表达猪圆环病毒2型Cap蛋白的重组C株.

5 对C株的未来展望

C株疫苗不仅安全稳定, 而且能诱导强大的免疫保护, 是一株举世公认的优秀猪瘟疫苗, 也是动物疫苗研发史上的一个经典之作. 借助于C株疫苗接种, 多个国家成功消灭了猪瘟疫, C株至今仍然在世界很多国家广泛应用. 为了适应当今猪瘟疫防控, 尤其是净化的需求, 需要对C株进行升级改造, 使之能区分疫苗免疫和野毒感染. 不过在这些标记疫苗投入临床应用之前, 需要以C株为参照, 对其临床和病毒学保护指标进行全面评估.

参考文献

- 1 Qiu H J, Tong G Z, Shen R X. The lapinized Chinese strain of classical swine fever virus: a retrospective review spanning half a century (in Chinese). *Sci Agric Sin*, 2005, 38: 1675–1685 [仇华吉, 童光志, 沈荣显. 猪瘟疫化弱毒疫苗——半个世纪的回顾. *中国农业科学*, 2005, 38 (8): 1675–1685]
- 2 Moennig V, Floegel-Niesmann G, Greiser-Wilke I. Clinical signs and epidemiology of classical swine fever: a review of new knowledge. *Vet J*, 2003, 165: 11–20
- 3 Moennig V. Introduction to classical swine fever: virus, disease and control policy. *Vet Microbiol*, 2000, 73: 93–102
- 4 Wang Q, Tu C C. Classical Swine Fever (in Chinese). Beijing: China Agriculture Press, 2015 [王琴, 涂长春. 猪瘟疫. 北京: 中国农业出版社, 2015]
- 5 Launais M, Aynaud J M, Corthier G. Hog cholera virus: active immunization of piglets with the thiverval strain in the presence and absence of

- colostral passive immunity. *Vet Microbiol*, 1978, 3: 31–43
- 6 Shimizu Y, Furuuchi S, Kumagai T, et al. A mutant of hog cholera virus inducing interference in swine testicle cell cultures. *Am J Vet Res*, 1970, 31: 1787–1794
 - 7 Wang Z. Retrospect and prospect of the studies on the control classical swine fever (in Chinese). In: *Progress in Immunological Prevention of Important Diseases of Animals*. Beijing: China Agriculture Press, 1996. 64–71 [王在时. 猪瘟防治研究的回顾和展望. 畜禽重大疫病免疫预防研究进展. 北京: 中国农业出版社, 1996. 64–71]
 - 8 Bran L, Mihaita S, Popa M. Trans-uterine and transplacental transmission of attenuated rabbit-adapted swine fever virus strains, in pregnant sows. *Arch Vet (Bucuresti)*, 1971, 22: 11–20
 - 9 Kojnok J, Palatka Z, Bognár K. Anforderungen an die kaninchenadaptierte Schweinepestvakzine [Requirements of rabbit-adapted swine fever vaccine]. *Arch Exp Veterinarmed*, 1980, 34(1): 67–72
 - 10 Precausta P, Kato F, Brun A. Swine fever. Immunisation of piglets. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis*, 1983, 6: 281–289
 - 11 Kaden V, Glaner M. Zum Eintritt und zur Dauer der Immunität gegen Schweinepest nach aerogener Immunisierung [Onset and persistence of immunity to swine fever following aerogenic immunization]. *Arch Exp Veterinarmed*, 1982, 36: 593–599
 - 12 Lai S, Chen C S, Huang T H. Roles of protection in pigs given an attenuated hog cholera virus vaccine-LPC-China strain. In: *Proceedings of the International Pigs Veterinary Society*. Mexico City, 1982. 126
 - 13 Terpstra C, Woortmeyer R, Barteling S J. Development and properties of a cell culture produced vaccine for hog cholera based on the Chinese strain. *Dtsch Tierarztl Wochenschr*, 1990, 97: 77–79
 - 14 Szent-Ivanyi T. Eradication of classical swine fever in Hungary. In: *Proceedings of the CEC Seminar on Hog Cholera/Classical Swine Fever and African Swine Fever*, Hanover, 1977. 443–440
 - 15 Ferrari M. A tissue culture vaccine with lapinized Chinese (LC) strain of hog cholera virus (HCV). *Comp Immunol Microbiol Infect Dis*, 1992, 15: 221–228
 - 16 Vandeputte J, Too H L, Ng F K, et al. Adsorption of colostral antibodies against classical swine fever, persistence of maternal antibodies, and effect on response to vaccination in baby pigs. *Am J Vet Res*, 2001, 62: 1805–1811
 - 17 Dewulf J. Epidemiology and control of classical swine fever: experimental assessment of virus transmission and potential benefits of emergency vaccination. Ph.D. Thesis. Gent: Universiteit Gent, 2002
 - 18 Sun Y, Qiu H J. Eradication of classical swine fever in China: is it far away? (in Chinese) *Sci Agric Sin*, 2018, 51: 4169–4176 [孙元, 仇华吉. 中国猪瘟净化之路: 离我们还有多远? 中国农业科学, 2018, 51: 4169–4176]
 - 19 Aynaud J M, Corthier G, Laude H, et al. Sub-clinical swine fever: a survey of neutralizing antibodies in the sera of pigs from herds having reproductive failures. *Ann Rech Vet*, 1976, 7: 57–64
 - 20 Terpstra C, Wensvoort G. The protective value of vaccine-induced neutralising antibody titres in swine fever. *Vet Microbiol*, 1988, 16: 123–128
 - 21 Qiu H S, Lang H W, Wang Z S. Trials on the protection against wild-type strains of hog cholera in China by C-strain vaccine (in Chinese). *Chin J of Vet Drug*, 1997: 115–117 [丘惠深, 郎洪武, 王在时. 猪瘟兔化弱毒疫苗与我国近年猪瘟野毒的免疫保护相关性试验. 中国兽药杂志, 1997: 115–117]
 - 22 Wang Q, Ning Y B. Major factors leading to failed immunization against classical swine fever (in Chinese). *Pig World*, 2003, 7:7–9 [王琴, 宁宜宝. 猪瘟免疫失败的主要原因分析. 猪世界, 2003, 7: 7–9]
 - 23 Tu C, Lu Z, Li H, et al. Phylogenetic comparison of classical swine fever virus in China. *Virus Res*, 2001, 81: 29–37
 - 24 Tu C C. Prevalence situation and control strategies of classical swine fever in the world and China (in Chinese). *Sci Agric Sin*, 2003, 36: 955–960 [涂长春. 猪瘟国际流行态势、我国现状及防制对策, 中国农业科学, 2003, 36: 955–960]
 - 25 Aynaud J M. *Classical Swine Fever and Related Viral Infections*. Boston: Martinus Nijhoff, 1988. 165–180
 - 26 Moormann R J, van Gennip H G, Miedema G K, et al. Infectious RNA transcribed from an engineered full-length cDNA template of the genome of a pestivirus. *J Virol*, 1996, 70: 763–770
 - 27 van Gennip H G P, van Rijn P A, Widjoatmodjo M N, et al. Recovery of infectious classical swine fever virus (CSFV) from full-length genomic cDNA clones by a swine kidney cell line expressing bacteriophage T7 RNA polymerase. *J Virol Methods*, 1999, 78: 117–128
 - 28 Li Y, Xie L, Zhang L, et al. The E2 glycoprotein is necessary but not sufficient for the adaptation of classical swine fever virus lapinized vaccine C-strain to the rabbit. *Virology*, 2018, 519: 197–206
 - 29 Li Y, Yuan M, Han Y, et al. The unique glycosylation at position 986 on the E2 glycoprotein of classical swine fever virus is responsible for viral

attenuation and protection against lethal challenge. *J Virol*, 2022, 96: e0176821

- 30 Zhang L, Li Y, Xie L, et al. Secreted expression of the cap gene of porcine circovirus type 2 in classical swine fever virus C-strain: Potential of C-strain used as a vaccine vector. *Viruses*, 2017, 9: 298

The history, present and future of the lapinized vaccine C-strain against classical swine fever

SUN Yuan, LI YongFeng & QIU Hua-Ji

State Key Laboratory for Animal Disease Control and Prevention, Harbin Veterinary Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Harbin 150069, China

doi: [10.1360/SSV-2023-0176](https://doi.org/10.1360/SSV-2023-0176)