

doi:10.11751/ISSN.1002-1280.2023.09.12

# 猪瘟病毒致弱机制研究进展

陈紫昱,徐璐,夏应菊,宋新宇,刘业兵\*

(中国兽医药品监察所国家猪瘟参考实验室,北京 100081)

[收稿日期] 2023-05-14 [文献标识码] A [文章编号] 1002-1280(2023)09-0087-08 [中图分类号] S852.65

**[摘要]** 猪瘟是由猪瘟病毒(CSFV)引起的一种严重的猪的传染病,其有效控制主要依赖于猪瘟兔化弱毒疫苗株的应用,但该毒株致弱的机制尚未完全阐明。对近年猪瘟病毒结构蛋白、非结构蛋白和非编码区对毒力影响的国内外研究成果进行了综述,以期为猪瘟病毒致弱相关机制的研究以及新型疫苗的研发提供参考。

**[关键词]** 猪瘟病毒;致弱机制;毒力

## Research Progress on the Attenuated Mechanism of Swine Fever Virus

CHEN Zi-yu, XU Lu, XIA Ying-jv, SONG Xin-yu, LIU Ye-bing\*

(China Institute of Veterinary Drug Control, National Classical Swine Fever Reference Laboratory, Beijing 100081, China)

Corresponding author: LIU Ye-bing, E-mail:zjsliuyebin@163.com

**Abstract:** Classical swine fever is a serious swine infectious disease caused by classical swine fever virus (CSFV). The effective control of classical swine fever mainly depends on the development and application of rabbit attenuated vaccine strain of classical swine fever. However, the real reason for the attenuation of this strain has not been fully clarified. In this paper, the effects of structural proteins, non-structural proteins and non-coding regions of CSFV on virulence in recent years were reviewed, in order to provide reference for the research on the attenuation mechanism of CSFV and the research and development of new vaccines.

**Key words:** swine fever virus; attenuated mechanism; virulence

猪瘟(Classical Swine Fever, CSF)是由猪瘟病毒(Classical Swine Fever Virus, CSFV)引起的猪最重要的传染病之一,给全球养猪业带来了巨大的经济损失,是世界动物卫生组织规定的必须上报的猪病之一,我国 2022 年将其调整为二类动物疫病。

CSFV 属于黄病毒科瘟病毒属,为二十面体的囊膜病毒,具有约 12.3kb 的单股正链 RNA 基因组。其基因组包含一个开放阅读框(ORF),5'端和 3'端各有一个非编码区(UTR)。病毒颗粒由 4 种结构蛋白(核心蛋白 C、包膜糖蛋白 E<sup>ms</sup>、E1 和 E2)以及

**基金项目:** 甘肃省科技重大专项计划(21ZD3NA001-6)

**作者简介:** 陈紫昱,硕士研究生,研究方向为猪瘟分子致弱机制研究。

**通讯作者:** 刘业兵。E-mail:zjsliuyebing@163.com

8 种非结构蛋白 ( $N^{pro}$ 、p7、NS2、NS3、NS4A、NS4B、NS5A 和 NS5B) 组成<sup>[1]</sup>。针对 CSF 的防控,由强毒株致弱制成的减毒活疫苗是应用最为广泛的。弱毒疫苗 Thiverval 株是 OIE 推荐的疫苗,该疫苗株是从原始强毒 Alfort 毒株衍生的减毒疫苗株,具有可靠的保护效力和快速的保护能力。除此之外,还有日本的减毒疫苗株 GPE 菌株,GPE 菌株是由高毒性菌株 ALD 先在猪睾丸细胞中的 142 次传代、在牛睾丸细胞中的 36 次传代和在原代豚鼠肾 (pGPK) 细胞中的 32 次传代获得的,该疫苗株使得日本在 20 世纪免受 CSF 的困扰。菲律宾的 Lapinized Philippines Coronel (LPC) 疫苗也是一种减毒的 CSFV 毒株,是预防和控制 CSFV 感染的重要工具,在 CSF 流行区广泛使用。20 世纪五十年代,中国科学家经过兔体连续传代和系统测试,培育出了一株适应于家兔的 CSFV 兔化弱毒株 (Hog Cholera Lapinized Virus, HCLV)。猪体试验表明该毒株不仅对猪安全,还保持了优良的免疫原性。用该毒株免疫猪 4 天即可产生免疫保护力,一次接种产生的免疫保护期可达一年以上。该毒株于 1956 年用于生产弱毒疫苗,并在全国推广使用。同年,中国政府将该毒株以先进科技成果先后无偿赠送给前苏联、匈牙利、罗马尼亚、朝鲜、保加利亚及越南等当时的社会主义友好国家。匈牙利应用证明,来自北京的兔化弱毒株优于美英当时的 Rovac 及 SFV 等商品弱毒苗,它对种猪、乳猪无残余毒力。HCLV 种毒之后被传到大部分欧洲国家及一些拉美国家,并且该疫苗荣获 1983 年国家发明一等奖。时至今日这一毒株仍在我国和世界上许多国家广泛使用,是国际上公认最安全有效的猪瘟弱毒疫苗,因此国际上通常将该疫苗株称为“C”株,即“中国”株。有研究表明,CSFV 通过兔体传代,导致 E2 基因关键氨基酸位点突变,促进猪瘟病毒侵入家兔脾脏淋巴细胞,进而赋予 CSFV 对家兔的适应性<sup>[2]</sup>。猪瘟兔化弱毒疫苗应用已有多年的历史,但其毒力致弱的分子机制还尚未完全明确。并且目前使用的减毒活疫苗会干扰血清学诊断,使得鉴别诊断存在困难,因此继续研发新的诊断工具和新型疫苗十分必要。

随着分子生物学技术的发展,对 CSFV 的毒力基因有了更为深入的研究。本文从病毒结构角度对 CSFV 致弱机制的国内外研究成果进行综述,以期为后续的研究以及候选疫苗的开发提供参考。

## 1 基于结构蛋白 E2 的致弱机制研究

E2 蛋白位于病毒囊膜表面,是一种功能重要的糖蛋白,分子量大小约为 55kDa,其空间结构由三个疏水区和三个氨基端的链内二硫键构成。在靠近 E2 蛋白氨基端上游有一段信号肽序列,羧基端有一段跨膜区,E2 蛋白由 A、B、C、D 四个抗原结构域组成(图 1)。E2 蛋白是 CSFV 毒力的决定因子之一,也是免疫原性最好的结构蛋白,能诱导中和抗体的产生<sup>[3]</sup>。

早在 2005 年,Risatti 等用疫苗株 E2 基因替换强毒株中的 E2 基因,构建的嵌合病毒在猪体内的毒力明显降低,从而证明 E2 基因与毒力致弱直接相关。更加深入的研究发现,E2 蛋白羧基端 882–1032 之间存在一段 12 个氨基酸的取代 (T886M、P889L、Q892R、S927L、T928A、H955R、D958G、A975E、R979S、A988T、R994K 和 I1032V) 可以降低病毒致病性<sup>[4]</sup>。研究表明,与 C 株同为 1.1 亚型的经典强毒株石门株在 E2 基因上存在差异位点,这一结果提示 E2 基因可能是导致 C 株致弱的原因之一。E2 蛋白与宿主蛋白 DCTN6 之间的相互作用也可以影响病毒毒力,介导与 DCTN6 相互作用的关键 E2 位点突变后的重组突变体  $E2\Delta cDCTN6v$  在猪中被完全减毒<sup>[5]</sup>。E2 蛋白与核糖体蛋白的相互作用也会影响病毒毒力,敲除核糖体蛋白 RPLP1 基因可以使病毒滴度降低<sup>[6]</sup>。E2 蛋白的糖基化位点是影响 CSFV 毒力的重要因素,研究发现 C 株 E2 蛋白在序列基序 986 NYT988 位点有独特的糖基化,这可能是 C 株毒力减弱和提供完全保护的原因<sup>[7]</sup>。

E2 糖蛋白对 CSFV 的免疫原性同样有着十分重要的作用,它不仅可以诱导抗体的产生,而且也是诱导特异性细胞毒性 T 淋巴细胞 (CTL) 应答的主要蛋白。基于 E2 蛋白的免疫原性,将 E2 蛋白和 CD154 抗原结合制成的改良疫苗具有良好的保护

效力<sup>[8]</sup>,并且国内外也有商品化的猪瘟 E2 蛋白亚单位疫苗上市。最近的研究表明,E2 蛋白 CD 结构域边界鉴定出新的线性表位 P33,具有中和活性并且可用于 CSFV 与牛病毒性腹泻病毒( Bovine viral diarrhoea virus, BVDV)的鉴别诊断<sup>[9]</sup>,但其对病毒致弱的作用有待进一步的探究。

E2 蛋白和 CSFV 的其他区域存在相互作用,共同调控 CSFV 的感染过程。孙永科等<sup>[10]</sup>利用构建重组腺病毒的方法,对不同处理组的猪进行了观察,发现 E2 和 E<sup>rns</sup>结合的重组病毒可以对猪只提供保护。仇华吉等<sup>[11]</sup>研究发现表达 C 株 E<sup>rns</sup> - E1 - E2、E<sup>rns</sup> - E2 或 E1 - E2 的嵌合病毒,在兔子脾脏中可检测到与 C 株相类似的病毒复制水平,这表明 E2 蛋白和 E<sup>rns</sup>或 E1 协同作用很有可能是 C 株致弱的原因之一。更加深入的研究显示,E2 结构域 I 中的氨基酸 P108 和 T109 对于 C 株在家兔体内的致弱是关键的<sup>[2]</sup>。最近的研究表明,用石门株中的 E<sup>rns</sup> 或 E2 替代 C 株的相应部位构建的嵌合体病毒诱导轻度的发热反应,而 E2 和 E<sup>rns</sup>均被替换的嵌合体病毒则消除了发热反应并且在兔体内没有表现出适应性<sup>[12]</sup>,这同样表明 E2 蛋白和 E<sup>rns</sup>之间的相互作用是 C 株在家兔体内致弱的关键。E2 蛋白和 3' UTR 在减毒嵌合体病毒基因组的稳定性方面表现出协同作用,E2 或 3' UTR 的替代均可降低病毒的复制。E2 蛋白是目前研究最为广泛的蛋白,对 E2 蛋白关键位点的综述,将为研制新型疫苗和诊断制剂提供理论基础。深入研究 E2 蛋白与病毒致弱的关键位点,有利于通过精准的基因编辑来实现新的标记疫苗的研发。

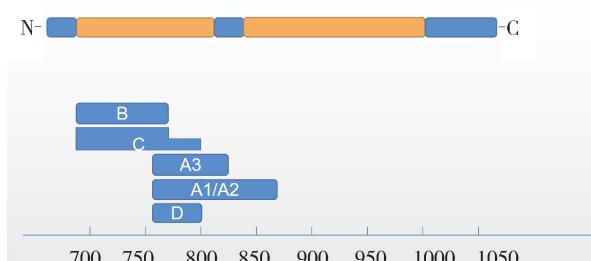


图 1 图 1 E2 蛋白基因结构图

Fig 1 The structure diagram of E2 protein

## 2 基于结构蛋白 E<sup>rns</sup> 的致弱机制研究

E<sup>rns</sup> 是分子量为 44kDa 的囊膜糖蛋白,由 227 个氨基酸组成,共有 7 个糖基化位点。E<sup>rns</sup> 通常以二聚体形式存在,是 CSFV 毒力的必需因子。E<sup>rns</sup> 也能够刺激中和抗体的产生,但是单独的 E<sup>rns</sup> 不能诱导保护性免疫反应,需要和 E2 蛋白共同存在<sup>[3]</sup>。

E<sup>rns</sup> 对病毒的毒力有十分重要的意义,缺失 E<sup>rns</sup> 蛋白的糖基化位点能使病毒毒力减弱。Borca 等<sup>[13]</sup>基于 Brescia E<sup>rns</sup> 基因构建了一组糖基化突变体,发现 N269 糖基化位点使病毒毒力减弱,这表明 E<sup>rns</sup> 与 CSFV 毒力致弱直接相关。Tucakov 等<sup>[14]</sup>的研究发现缺乏半胱氨酸 171 的 CSFV 突变体影响了 E<sup>rns</sup> 二聚体的形成从而在猪体内被减弱;体内自发补偿突变使 E<sup>rns</sup> 二聚体恢复后 CSFV 恢复了毒力,这证实了 E<sup>rns</sup> 二聚体的形成对 CSFV 毒力的重要性。E<sup>rns</sup> 还具有细胞毒性作用,它可以抑制淋巴细胞的增殖和蛋白质的合成,并且尚未发现其细胞毒性作用具有种属特异性,这种细胞毒性作用有可能是 E<sup>rns</sup> 与毒力相关的另一原因。E<sup>rns</sup> 对 CSFV 毒力的影响可能是因为它具有核糖核酸酶(RNase)活性,而 RNase 具有神经毒性、免疫抑制、抗蠕虫和抗肿瘤等作用。王苗苗等<sup>[15]</sup>构建了一株基于低毒力野生型 CSFV 的缺乏 RNase 活性的 cDNA 克隆,E<sup>rns</sup> 的 RNase 活性的缺失增强了仔猪体液免疫反应,降低了病毒的毒力、传染性和持久性。与 RNase 活性有关的关键氨基酸位点被取代后,CSFV 的致病性减弱或丧失。Iqbal 等<sup>[16]</sup>研究发现,对 CSFV 和 BVDV 的 E<sup>rns</sup> 基因进行修饰,使其丧失 RNase 活性后病毒致病性减弱,这表明 RNase 活性与毒力致弱直接相关。RNase 活性还可以阻止 ssRNA、dsRNA 诱导的干扰素(IFN)表达,在自然界发现的任何瘟病毒表达的 E<sup>rns</sup> 几乎都是 IFN 的拮抗剂<sup>[17]</sup>,影响 RNase 活性的突变(H30F、PR 突变)会显著减弱病毒对 IFN 表达的抑制作用<sup>[18]</sup>。Python 等<sup>[19]</sup>构建了无 RNase 活性的 CSFV 突变体,结果显示,无 RNase 活性的突变体诱导的 IFN- $\alpha$  含量是野生型 CSFV 诱导的 10 倍。而逃避 IFN 反应很有可能是 CSFV 诱导持续性感染的核心因素<sup>[20]</sup>,已有研究表明 C

株疫苗在接种的早期缓慢复制,避免了 IFN- $\alpha$  和 IFN- $\beta$  的过早过度表达,这种抑制 IFN 产生的特性可能是 C 株致弱的机制,这也表明 E<sup>ms</sup> 影响毒力的机制可能是其 RNase 活性对 IFN 表达的调控。E<sup>ms</sup> 蛋白是决定病毒毒力的重要因素,更好的了解 E<sup>ms</sup> 与病毒复制以及病毒毒力的关系为开发针对 CSFV 的 DIVA 疫苗提供了新的研究方向,从而有利于区分 CSF 与其他瘟疫病毒,并为有效控制和根除 CSF 做出贡献。

### 3 基于非结构蛋白的致弱机制研究

CSFV 病毒颗粒包含 8 种非结构蛋白(N<sup>pro</sup>、p7、NS2、NS3、NS4A、NS4B、NS5A 和 NS5B),这些非结构蛋白在 CSFV 感染过程中发挥着各自的作用。N<sup>pro</sup> 是 CSFV 特有的一种半胱氨酸样蛋白,它可以从正在翻译的多聚蛋白上断裂并成熟,其分子量约为 19kDa。N<sup>pro</sup> 有可能与病毒毒力相关,Mayer 等<sup>[21]</sup> 构建了缺失 N<sup>pro</sup> 基因的突变体,发现中等毒力和强毒株突变体都导致毒力的减弱,这表明 N<sup>pro</sup> 与病毒毒力致弱相关。研究发现,N<sup>pro</sup> 蛋白可以抑制宿主的免疫应答,N<sup>pro</sup> 既可以拮抗 dsRNA 介导的 TRL3 依赖和非依赖性途径中 I 型 IFN 的诱导,又可以通过降解 TRL3 的蛋白酶体抑制 I 型 IFN 的诱导<sup>[22]</sup>,同时还可以通过抑制干扰素调节因子 (IRF1) 的表达来抑制 III 型 IFN 的产生<sup>[23]</sup>。N<sup>pro</sup> 蛋白很有可能参与细胞蛋白的泛素化修饰,抑制细胞增殖,诱导 I 型辅助性 T 淋巴细胞的凋亡。N<sup>pro</sup> 还可以拮抗 TRL3 和视黄酸诱导基因蛋白 I (RIG1) 介导的细胞凋亡,从而使病毒不易被清除,这可能是 CSFV 免疫逃避的一种机制<sup>[24]</sup>,这种拮抗宿主对 CSFV 入侵的反应是否是 N<sup>pro</sup> 影响毒力的原因还有待更加深入的研究。N<sup>pro</sup> 与核糖体蛋白 S20(U10) 的相互作用可以阻止 CSFV 在体内的复制,并且在 CSFV 感染过程中发挥抗病毒作用<sup>[25]</sup>,然而 S20 降低病毒在体内含量的机制尚不明确。N<sup>pro</sup> 蛋白对病毒复制以及宿主免疫应答的作用可能是缺失 N<sup>pro</sup> 基因的突变体毒力致弱的原因之一,但更深入的机制还值得更进一步的研究。

P7 蛋白是一种分子量约为 6kDa~7kDa 的疏

水性小跨膜蛋白,在 CSFV 毒力中起着重要作用。Gladue 等<sup>[26]</sup> 通过丙氨酸扫描突变创建了一组在 P7 基因上含有 3~6 个连续氨基酸残基替换的重组突变体,研究了接种动物的临床症状和体内病毒滴度,发现 P7 蛋白与病毒毒力致弱直接相关。林志等<sup>[27]</sup> 利用质粒 pEGFP-p7 转染巨噬细胞,对 IL-1 $\beta$  的 mRNA 蛋白含量进行监测,发现 P7 可以诱导巨噬细胞分泌 IL-1 $\beta$ ,这表明 P7 蛋白参与 CSFV 在体内介导的炎症反应,但其与病毒致弱的关系有待进一步的研究。赵成等<sup>[28]</sup> 的研究结果显示,P7 蛋白 TM1 区的 3 个氨基酸取代(p7<sup>TDI18/19/20AAA</sup>, p7<sup>EVV21/22/23AAA</sup> 和 p7<sup>YFY25/26/30AAA</sup>) 抑制了感染性病毒的产生,病毒滴度显著降低。P7 可以与宿主蛋白 CAMLG 相互作用,破坏这种作用会影响 CSFV 在细胞培养中复制的能力<sup>[29]</sup>,这为病毒毒力致弱机制的研究提供了一定的参考。

NS3 蛋白在 CSFV 的复制、转录和翻译以及病毒多聚蛋白的加工过程中起到重要作用<sup>[30]</sup>。朱洪昌等<sup>[31]</sup> 用丙氨酸或天冬氨酸单取代或全部取代 NS3 蛋白上保守的四个碱性氨基酸残基以破坏 NS3 蛋白上保守的带正电荷的区域,结果显示突变体 VH24A、VR50A、VH24D、VR50D 或 VK74D 的病毒滴度显著降低,这表明 NS3 是病毒致弱的潜在靶点。邓少峰等<sup>[30]</sup> 研究发现宿主蛋白 PSMB10 通过泛素-蛋白酶体途径刺激 NS3 蛋白降解来抑制 CSFV 增殖。李小蒙<sup>[32]</sup> 等发现肿瘤坏死因子受体相关因子 5 (TRAF5) 与 NS3 相互作用,TRAF5 通过激活 p38 MAPK 通路促进 CSFV 复制。NS3 与病毒复制密切相关,然而关于是否可以突变 NS3 抑制病毒复制,从而降低病毒滴度,导致病毒对猪体毒力下降的研究还需深入的探索。

非结构蛋白 NS4A、NS4B、NS5A、NS5B 通常与病毒复制与合成相关,影响病毒复制的位点是影响毒力的潜在位点。病毒在猪体内复制效率下降,可能会导致病毒滴度降低,从而导致病毒对猪体的毒力下降,成为对猪体不产生致病效应的减毒株<sup>[33]</sup>。马立新等<sup>[34]</sup> 研究发现 CSFV 的 NS4A 蛋白是一种抑制哺乳动物细胞中 RNA 干扰 (RNAi) 的新 RNA

沉默病毒抑制因子 (VSR), VSR 作用可以帮助 CSFV 逃避宿主的抗病毒作用, VSR 缺陷型 CSFV 的复制被减弱, 这为开发减毒活疫苗提供了依据。张彦明等<sup>[35]</sup>证明 NS4A 蛋白可以通过增强 MAVS 途径诱导 IL-8 产生, 并促进 CSFV 复制。NS4B 蛋白可以与宿主的核糖体蛋白 RPLP1 相互作用, 通过促进病毒基因组的转译增加病毒产量<sup>[36]</sup>。曹志等<sup>[37]</sup>研究表明, NS4B 的表达可以显著抑制 TRIF、IRF3 和 NF-κB p65 的表达, 从而抑制 poly (I:C) 刺激后 IFN-β 和 IL-6 的分泌, 影响 TLR 介导的先天免疫应答。张彦明等<sup>[38]</sup>利用慢病毒介导的组成型过表达和真核质粒瞬时过表达方法, 对 Rab5 敲除后细胞中病毒 RNA 含量进行了研究, 结果表明, 敲除 Rab5 对 CSFV 产生有抑制作用, 并且参与 NS4B 复合物的形成。非结构蛋白 NS5B 是一种 RNA 依赖的 RNA 聚合酶, CSFV NS5B 的 162 位点的氨基酸残基由脯氨酸突变为苏氨酸, 可以增加 RNA 依赖 RNA 聚合酶 (RdRP) 活性, 促进 CSFV 基因组的复制<sup>[39]</sup>。非结构蛋白 NS5A 在低浓度时可以与 NS5B 结合形成复制复合体, 促进病毒 RNA 的合成; 当 NS5A 的浓度超过 NS5B 时, NS5A 可以与 NS5B 和 3' UTR 相互作用, 抑制病毒的复制<sup>[40]</sup>, 这可能是 NS5A 通过浓度变化调控病毒复制的原因。肖明等<sup>[41]</sup>利用谷胱甘肽 S-转移酶下拉试验和免疫沉淀分析表明位于 NS5A 末端的氨基酸 K399、T401、E406 和 L413 对 NS5A-NS5B 相互作用是必需的, 这种相互作用可能是 NS5B 蛋白和 NS5A 蛋白对核糖体内部位点介导 (IRES) 的翻译产生影响的机制。

综上所述, 非结构蛋白对病毒毒力和病毒生命周期至关重要。我们可以更加全面地了解非结构蛋白对病毒感染的作用, 以便更深入地研究这些蛋白中负责病毒毒力的专门区域, 有助于设计更有效的生物工具来控制 CSF 的发生。

#### 4 基于 3' UTR 的致弱机制研究

CSFV 的 3' 非编码区 (3' UTR) 是一个富含 AU 的区域, 该区域也与病毒的毒力相关。王毅等<sup>[33]</sup>发现在 C 株的 3' UTR 中存在 12 个碱基序列 (CU-

UUUUUCUUUU) 的插入, 这是导致中国猪瘟兔化弱毒疫苗减毒的关键因素。低毒力的经典猪瘟病毒 Pinar del Río 3' UTR 中发现了一段平均长度为 36 个尿苷的新型聚尿苷束 (poly-U), 这可能是病毒毒力衰减的原因<sup>[42]</sup>。在减毒活疫苗 Thiverval 3' UTR 的 233~259 bp 之间, 存在着一段 6~32 nt 的可变长度的富 T 序列, 推测该插入是 Thiverval 毒力衰减的原因之一<sup>[43]</sup>。王苗苗等<sup>[44]</sup>在最近的研究中也发现在 3' 端插入 poly-U 可以导致病毒衰减, 减少受感染仔猪排毒量, 降低 CSFV 在体内的复制水平和疾病的严重程度。据报道, CSFV 3' UTR 的 3342 位点的脯氨酸仅存在于兔化减毒株中, 包括 C 株、Riems、LPC 和 HCLV-India 株, 这表明 3342 位点的脯氨酸可能是病毒在兔体内致弱的原因之一<sup>[39]</sup>。3' UTR 还可以与 E<sup>ms</sup> 的 RNase 功能协同作用来调节宿主的先天性和适应性免疫应答, 从而有利于 CSFV 在靶组织中的复制<sup>[45]</sup>。上述研究表明, 3' UTR 有着十分广阔的研究前景, 可以通过对 3' UTR 进行不同的修饰从而研究病毒毒力的变化, 从而进一步揭示影响病毒致病力的分子机制。

#### 5 小结与展望

近年来, 随着分子生物学等技术手段的发展, 有关 CSFV 致弱机制的研究得到了极大的发展。CSFV 的结构蛋白、非结构蛋白以及 3' UTR 对病毒致弱有着不同程度的影响。E2 蛋白是病毒毒力的决定因子之一, 也是免疫原性最好的结构蛋白。E<sup>ms</sup> 蛋白是毒力的必需因子, 通常和 E2 蛋白协同作用共同调节病毒毒力。非结构蛋白 N<sup>pro</sup> 可以调节病毒毒力, 而 NS3、NS4A、NS4B、NS5A 和 NS5B 则通常在病毒复制过程中发挥作用。3' UTR 通过碱基修饰可以使病毒致弱。上述研究成果均提示我们, 猪瘟病毒的致弱机制非常的复杂, 任何病毒基因的变化可能都会影响病毒的毒力, 因此, 对猪瘟病毒致弱毒株的研究和开发是一个系统的工程。现有的猪瘟弱毒疫苗虽然具有良好的保护性和有效性, 但仍然面临着新的病毒突变体和不能进行鉴别诊断的挑战。本文综述了 CSFV 可能存在的致弱机制, 这些研究启发未来新型标记疫苗的研发可以通

通过对 CSFV 结构蛋白和非结构蛋白的关键位点的基因修饰来实现,同时也为抗病毒药物的开发提供新的研究思路。

## 参考文献:

- [1] Lamp B, Riedel C, Roman - Sosa G, et al. Biosynthesis of classical swine fever virus nonstructural proteins [J]. *Journal of Virology*, 2011, 85(7):3607 – 3620.
- [2] 谢利豹. E2 蛋白介导的猪瘟兔化弱毒疫苗适应家兔的分子机制 [D]. 北京:中国农业科学院,2020.  
Xie L B. Molecular mechanism of adaptation of rabbit attenuated classical swine fever vaccine mediated by E2 protein to rabbits [D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2020.
- [3] Wei Q, Bai Y, Song Y, et al. Generation and immunogenicity analysis of recombinant classical swine fever virus glycoprotein E2 and Erns expressed in baculovirus expression system [J]. *Virology Journal*, 2021, 18(1):44.
- [4] Risatti G R, Holinka L G, Fernandez Sainz I, et al. Mutations in the carboxyl terminal region of E2 glycoprotein of classical swine fever virus are responsible for viral attenuation in swine [J]. *Virology*, 2007, 364(2):371 – 382.
- [5] Borca M V, Vuono E A, Ramirez - Medina E, et al. Structural glycoprotein E2 of classical swine fever virus interacts with host protein dynactin subunit 6 (DCTN6) during the virus infectious cycle [J]. *Journal of Virology*, 2019, 94(1):e01642 – 19.
- [6] Zhang L, Lin J, Weng M, et al. RPLP1, an NS4B – interacting protein, enhances production of CSFV through promoting translation of viral genome [J]. *Virulence*, 2022, 13 (1): 370 – 386.
- [7] 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]. *Journal of Virology*, 2022, 96(2):e0176821.
- [8] Suárez - Pedroso M, Sordo - Puga Y, Sosa - Teste I, et al. Novel chimeric E2CD154 subunit vaccine is safe and confers long lasting protection against classical swine fever virus [J]. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 2021, 234: 110222.
- [9] Xu Q, Guo J, Ma F, et al. A novel linear epitope at the C – terminal region of the classical swine fever virus E2 protein elicits neutralizing activity [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2021, 189:837 – 846.
- [10] Sun Y, Yang Y, Zheng H, et al. Co – expression of E<sup>rns</sup> and E2 genes of classical swine fever virus by replication – defective recombinant adenovirus completely protects pigs against virulent challenge with classical swine fever virus [J]. *Research in Veterinary Science*, 2013, 94(2):354 – 360.
- [11] 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 [J]. *Virology*, 2018, 519:197 – 206.
- [12] Cao T, Wang Z, Li X, et al. E2 and Erns of classical swine fever virus C – strain play central roles in its adaptation to rabbits [J]. *Virus Genes*, 2019, 55(2):238 – 242.
- [13] Sainz I F, Holinka L G, Lu Z, et al. Removal of a N – linked glycosylation site of classical swine fever virus strain Brescia E<sup>rns</sup> glycoprotein affects virulence in swine [J]. *Virology*, 2008, 370 (1):122 – 129.
- [14] Tucakov A K, Yavuz S, Schürrmann E M, et al. Restoration of glycoprotein E<sup>rns</sup> dimerization via pseudoreversion partially restores virulence of classical swine fever virus [J]. *The Journal of General Virology*, 2018, 99(1):86 – 96.
- [15] Wang M, Bohórquez J A, Hinojosa Y, et al. Abrogation of the RNase activity of E<sup>rns</sup> in a low virulence classical swine fever virus enhances the humoral immune response and reduces virulence, transmissibility, and persistence in pigs [J]. *Virulence*, 2021, 12 (1):2037 – 2049.
- [16] Iqbal M, Poole E, Goodbourn S, et al. Role for bovine viral diarrhea virus E<sup>rns</sup> glycoprotein in the control of activation of beta interferon by double – stranded RNA [J]. *Journal of Virology*, 2004, 78(1):136 – 145.
- [17] de Martin E, Schweizer M. Fifty shades of E<sup>rns</sup>: innate immune evasion by the viral endonucleases of all pestivirus species [J]. *Viruses*, 2022, 14(2):265.
- [18] Lussi C, de Martin E, Schweizer M. Positively charged amino acids in the pestiviral Erns control cell entry, endoribonuclease

- activity and innate immune evasion [J]. *Viruses*, 2021, 13(8):1581.
- [19] Python S, Gerber M, Suter R, et al. Efficient sensing of infected cells in absence of virus particles by plasmacytoid dendritic cells is blocked by the viral ribonuclease E<sup>ms</sup> [J]. *PLoS Pathog*, 2013, 9(6):e1003412.
- [20] Lussi C, Schweizer M. What can pestiviral endonucleases teach us about innate immunotolerance [J]? *Cytokine Growth Factor Reviews*, 2016, 29:53–62.
- [21] Mayer D, Hofmann M A, Tratschin J D. Attenuation of classical swine fever virus by deletion of the viral N (pro) gene [J]. *Vaccine*, 2004, 22(3–4):317–328.
- [22] Mine J, Tamura T, Mitsuhashi K, et al. The N – terminal domain of N<sup>pro</sup> of classical swine fever virus determines its stability and regulates type I IFN production [J]. *The Journal of General Virology*, 2015, 96:1746–1756.
- [23] Cao T, Li X, Xu Y, et al. N<sup>pro</sup> of classical swine fever virus suppresses type III interferon production by inhibiting IRF1 expression and its nuclear translocation [J]. *Viruses*, 2019, 11(11):998.
- [24] Hardy S, Jackson B, Goodbourn S, et al. Classical swine fever virus N<sup>pro</sup> antagonises IRF3 to prevent IFN – independent TLR3 and RIG – I – mediated apoptosis [J]. *Journal of Virology*, 2020, 95(5):e01136–20.
- [25] Lv H, Dong W, Qian G, et al. US10, a novel N<sup>pro</sup> – interacting protein, inhibits classical swine fever virus replication [J]. *The Journal of General Virology*, 2017, 98(7):1679–1692.
- [26] Gladue D P, Holinka L G, Largo E, et al. Classical swine fever virus p7 protein is a viroporin involved in virulence in swine [J]. *Journal of Virology*, 2012, 86(12):6778–6791.
- [27] Lin Z, Liang W, Kang K, et al. Classical swine fever virus and p7 protein induce secretion of IL – 1 $\beta$  in macrophages [J]. *The Journal of General Virology*, 2014, 95(Pt 12):2693–2699.
- [28] Zhao C, Shen X, Wu R, et al. Classical swine fever virus nonstructural protein p7 modulates infectious virus production [J]. *Scientific Reports*, 2017, 7(1):12995.
- [29] Gladue D P, Largo E, Holinka L G, et al. Classical swine fever virus p7 protein interacts with host protein CAMLG and regulates calcium permeability at the endoplasmic reticulum [J]. *Viruses*, 2018, 10(9):460.
- [30] Deng S, Yang C, Nie K, et al. Host cell protein PSMB10 interacts with viral NS3 protein and inhibits the growth of classical swine fever virus [J]. *Virology*, 2019, 537:74–83.
- [31] Zheng F, Yi W, Liu W, et al. A positively charged surface patch on the pestivirus NS3 protease module plays an important role in modulating NS3 helicase activity and virus production [J]. *Archives of Virology*, 2021, 166(6):1633–1642.
- [32] Lv H, Dong W, Guo K, et al. Tumor necrosis factor receptor – associated factor 5 interacts with the NS3 protein and promotes classical swine fever virus replication [J]. *Viruses*, 2018, 10(6):305.
- [33] 王毅, 吴海祥, 张楚瑜, 等. 猪瘟病毒感染性 cDNA 克隆的构建及其致病性 [J]. 病毒学报, 2005, 21(1):43–47.
- Wang Y, Wu H X, Zhang C Y, et al. Construction of infectious cDNA clone of classical swine fever virus and its pathogenicity [J]. *Acta Virosinica Sinica*, 2005, 21(1):43–47.
- [34] Qian Q, Xu R, Wang Y, et al. The NS4A protein of classical swine fever virus suppresses RNA silencing in mammalian cells [J]. *Journal of Virology*, 2022, 96(15):e0187421.
- [35] Dong W, Lv H, Guo K, et al. Classical swine fever virus infection and its NS4A protein expression induce IL – 8 production through MAVS signaling pathway in swine umbilical vein endothelial cells [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2018, 8:2687.
- [36] Zhang L, Lin J, Weng M, et al. RPLP1, an NS4B – interacting protein, enhances production of CSFV through promoting translation of viral genome [J]. *Virulence*, 2022, 13(1):370–386.
- [37] Cao Z, Yang Q, Zheng M, et al. Classical swine fever virus non – structural proteins modulate Toll – like receptor signaling pathways in porcine monocyte – derived macrophages [J]. *Veterinary Microbiology*, 2019, 230:101–109.
- [38] Lin J, Wang C, Zhang L, et al. Rab5 enhances classical swine fever virus proliferation and interacts with viral NS4B protein to facilitate formation of NS4B related complex [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2017, 8:1468.

- [39] Pang H, Li L, Liu H, et al. Proline to threonine mutation at position 162 of NS5B of classical swine fever virus vaccine C - strain promoted genome replication and infectious virus production by facilitating initiation of RNA synthesis [J]. Viruses, 2021, 13(8):1523.
- [40] Chen Y, Xiao J, Xiao J, et al. Classical swine fever virus NS5A regulates viral RNA replication through binding to NS5B and 3'UTR [J]. Virology, 2012, 432(2):376–388.
- [41] Sheng C, Wang J, Xiao J, et al. Classical swine fever virus NS5B protein suppresses the inhibitory effect of NS5A on viral translation by binding to NS5A [J]. The Journal of General Virology, 2012, 93(Pt 5):939–950.
- [42] Coronado L, Liniger M, Muñoz – González S, et al. Novel poly – uridine insertion in the 3'UTR and E2 amino acid substitutions in a low virulent classical swine fever virus [J]. Veterinary Microbiology, 2017, 201:103–112.
- [43] Fan Y, Zhao Q, Zhao Y, et al. Complete genome sequence of attenuated low – temperature Thiverval strain of classical swine fever virus [J]. Virus Genes, 2008, 36(3):531–538.
- [44] Wang M, Liniger M, Muñoz – González S, et al. A polyuridine insertion in the 3' untranslated region of classical swine fever virus activates immunity and reduces viral virulence in piglets [J]. Journal of Virology, 2020, 94(2):e01214–19.
- [45] Wang M, Bohórquez J A, Muñoz – González S, et al. Removal of the E<sup>ms</sup> RNase activity and of the 3' untranslated region polyuridine insertion in a low – virulence classical swine fever virus triggers a cytokine storm and lethal disease [J]. Journal of Virology, 2022, 96(14):e0043822.

(编 辑:李文平)