

2. アフリカ豚熱 (ASF)

國保健浩

農業・食品産業技術総合研究機構動物衛生研究部門

アフリカ大陸サハラ砂漠以南の風土病であるアフリカ豚熱 (ASF) はイノシシ科 (*Suidae*) の動物が罹患する熱性・出血性のウイルス感染症である。通常はサバンナ等に生息するカワイノシシやイボイノシシ等の野生種と *Ornithodoros* 属の軟マダニとの間で非臨床的な感染環を形成するが、ひとたび豚が感染するとダニの介在を要することなく水平伝播し、その強い毒力により養豚業に甚大な被害を与える。治療法・予防法は未だ確立されていない。病原体である ASF ウイルス (ASFV) は環境中での安定性が高く、感染豚の肉やその加工品中に潜んでアフリカ大陸から持ち出され、大流行を招くことがある。2018年8月には中国で発生し、以来東アジア、東南アジアで猛威を振り、日本の養豚業にとっても極めて大きな脅威となっている。本稿では本病を概観し、万一の発生に備えた“awareness”と“preparedness”の形成に役立てたい。

1. 分類

アフリカ豚熱 (African swine fever; ASF, 旧名: アフリカ豚コレラ) は1921年に英国人の Montgomery によって初めて報告された豚およびイノシシの熱性感染症である¹⁾。初期には“Montgomery's disease”とも呼ばれたが、当時アフリカ大陸ではそれまで発生のなかった豚熱 (classical swine fever; CSF, 旧名: 豚コレラ) との臨床上の類似性から、アフリカ土着の CSF 様の感染症として“ASF”という名が付けられている^{脚注1}。初報告は1921年であるが、実際には1900年代初頭からケニア、ウガンダでヤブイノシシやイボイノシシなどの野生種と接触した豚においてしばしば認められる風土病であった²⁾。

ASFの原因である ASF ウイルス (ASFV) は、巨大な直鎖状の二本鎖 DNA をゲノムにもつ巨大核質ウイルスのひとつで³⁾、最新の国際ウイルス分類 (ICTV, 2018b.v2)

ではアスファウイルス属アスフィウイルス科に分類されている⁴⁾。*Ornithodoros* 属の軟マダニによって媒介される唯一の DNA アルボウイルスでもある。

なお、現在上記の分類では ASFV がアスファウイルス属を構成する唯一の種とされているが、最近、ファウストウイルス (Faustovirus) と呼ばれるアメーバを宿主とする類似のウイルスが報告されている⁵⁻⁶⁾。

2. 分布

ASF はアフリカ大陸のサハラ砂漠以南およびマダガスカル島に分布し、イノシシ科 (*Suidae*) のカワイノシシ (*Potamochoerus larvatus*) やイボイノシシ (*Phacochoerus aethiopicus*) 等の野生種^{脚注2}とそれらの個体間の伝播を媒介する *Ornithodoros* 属の軟マダニとの間で自然感染環を形成する⁷⁻⁸⁾。

ASF に感染したこれらの野生種は一過性に低レベルのウイルス血症を示すものの、通常は不顕性の経過を辿り、疾病として検知されることはない¹⁰⁾。ただし、感染ダニ

連絡先

〒187-0022

東京都小平市上水本町 6-20-1

農業・食品産業技術総合研究機構動物衛生研究部門

TEL: 042-321-1466

FAX: 042-325-5122

E-mail: takehiro@affrc.go.jp

脚注 1

CSF, ASF の旧和名として用いられてきた“コレラ”という名称は、おもに米国で本病の呼称として用いられてきた“hog cholera”に由来するが、現在は米国でもあまり用いられない。

脚注 2

アフリカ大陸に生息するカワイノシシやイボイノシシは、日本に生息する家畜としての豚やニホンイノシシ等の野生動物 (*Sus scrofa*) とは別種に分類される⁹⁾。

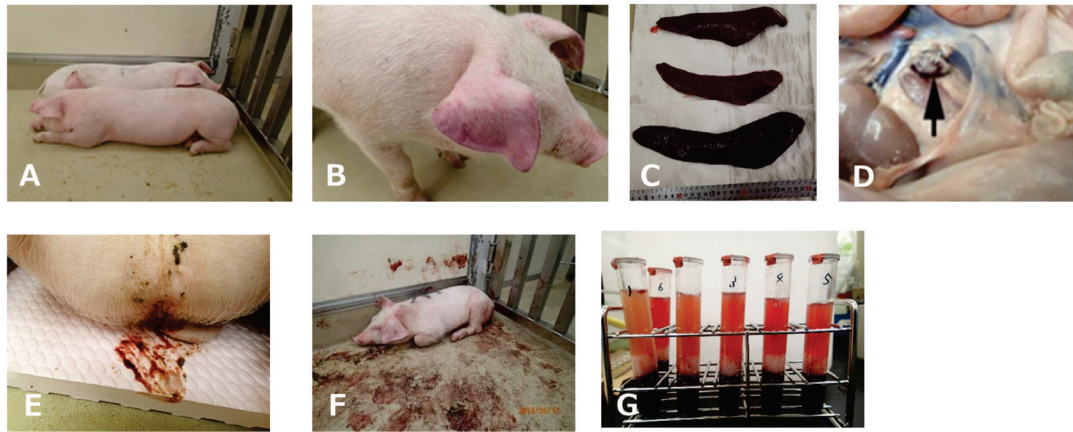


図1 ASFV 強毒株を接種した豚の臨床・解剖所見

A: 沈鬱, B: チアノーゼ, C: 軽度の脾腫 (下), D: 胃周囲のリンパ節の暗赤色化,
E: 天然孔からの出血, F: 出血傾向を示す豚の豚房, G: 凝固不全の血液

を介して偶発的にイノシシ科の動物 (特に食用として欧州等からアフリカ大陸へ持ち込まれた豚やその交配種。以下、「家畜豚」) に感染すると、感染後まもなく高熱、沈鬱、食欲廃絶等の臨床症状を呈してほぼ全頭が死に至る。そのため本病は豚において散発的に発生するアフリカの風土病とみなされてきた。

しかし、20世紀後半になって、航空ならびに海上輸送による人や物の長距離移動が拡大する中で、病原体の不用意な持ち出しに起因するASFが、1957年に欧州で、また1960年には欧州での再発生を経て中南米へと拡大し、家畜豚に甚大な被害を与えた¹¹⁾。ASFVは環境中での安定性が高く、感染動物の体内 (血液や臓器中) で長期間感染力を失わずに生存する¹²⁻¹³⁾。そのため摘発をすり抜けてと畜・加工に回された感染豚の肉やそれに由来する非加熱の加工品を、例えば人の食品残渣として豚に給餌したり、放置されたゴミとしてイノシシが漁ったりすることによって容易に感受性動物の集団内に侵入し、発症する。事実、前述の二度にわたるアフリカ大陸外での流行は、いずれも航空路線の機内で提供された食事の残渣を適切に処分せずに豚に与えたことが原因だと考えられている¹⁴⁻¹⁵⁾。これらの流行は前世紀末までにはイタリアの一部 (サルディニア島) を残して概ね根絶されたが、2007年に突如として黒海東岸のジョージアで再発し、コーカサス地方、ロシア、東欧、ベルギー、ギリシャ等へと拡散した。この流行は、チェコを除き、現在 (2020年4月末) に至るまで終息していない¹⁶⁾。この流行の原因もまたアフリカからの国際航路の船内で提供された料理の残渣を豚に与えたことだと推測されている。本流行は2018年8月に世界最大の養豚国である中国へ広がり、翌2019年5月までに全省でまん延する事態となっている。この間、近隣のモンゴル (2019年1月)、ベトナム (2月)、カンボジア (4月)、北朝鮮 (5月)、香

港 (6月)、ラオス (7月)、フィリピン、韓国、東チモール (9月)、インドネシア (12月)、パプアニューギニア (2020年3月) に拡大し、2020年4月末現在も各地で散発的な発生が続いている。

3. 感染環 (感染経路)

ASFの流行では、1) アフリカ固有の野生動物と軟マダニ間の自然感染、2) 感染ダニから家畜豚への偶発的な伝播、3) 豚肉および豚肉加工品等、畜産物を介した感染、4) 家畜豚 (イノシシを含む) 間の交配を含む水平伝播、5) イノシシの死体等のASFV含有物で汚染された環境からの感染が重要である¹⁷⁾。1) と2) は軟マダニが媒介する水平伝播であり、おもにアフリカで見られる感染様式であるが^{脚注3)}、3) はアフリカ以外の地域でも見られ、一度豚群に侵入してしまうと広範な流行の引き金となる。

我々は国内の空港で海外からの渡航客の違法な持ち込み品として回収された豚肉加工品から、現在世界で流行しているASFVと同系統のウイルス株を分離しており¹⁸⁾、このような様式で“人為的”に伝播されるウイルスの危険性には特段の注意を払う必要がある。ASFに罹患した豚やイノシシは大量のウイルスを体外に排泄するため、4) の伝播様式で農場や山野へと感染を広げる。この段階に至るともはや軟マダニの介在は不要になり、個体間の水平伝播によってウイルスは急速に拡散する。推定88万頭とも言われる野生イノシシを抱える日本において¹⁹⁾、万が一イノシシが感染した場合には、本病の根絶が著しく困難になることは想像に難くない。5) は4) の間接的な感染様式で

脚注3

イベリア半島には *Ornithodoros* 属の一種である軟マダニ (*O. erraticus*) が生息しており、過去のASFの流行においてはウイルスの伝播に関与した。

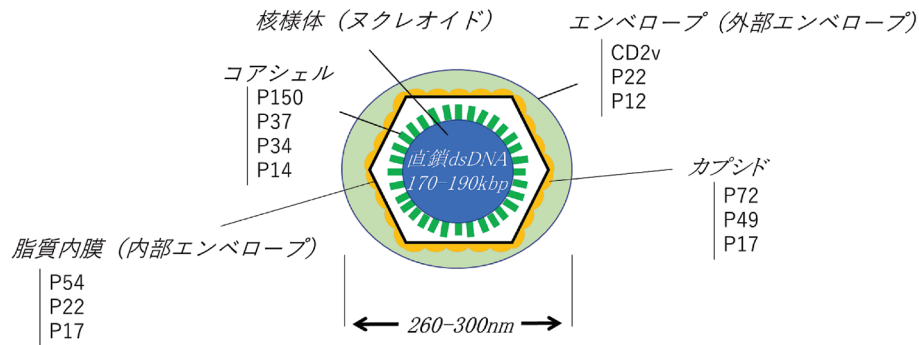


図2 ASFVの粒子構造の模式図

あるが、環境中で安定性の高いASFVが感染イノシシの死骸や排泄物を介して別の個体に伝播することで成立する感染であり、場合によってはイノシシに代わって人や車馬がその媒介者になり得る点に留意すべきである。

なお、ASFVはイノシシ科 (*Suidae*) の動物と軟マダニにのみに感染し、人を含む霊長類やその他の哺乳動物、鳥類等には感染しない。

4. 臨床症状

ASFの病型は甚急性から慢性あるいは不顕性まで様々である。上述の通り、アフリカのサバンナではイボイノシシやカワイノシシが軟マダニの咬刺により感染し、時に一過性の発熱やウイルス血症を呈するものの、通常は不顕性に経過する。一方、家畜豚やイノシシでは甚急性ないしは急性の転帰をとって発症から数日のうちにほぼ100%が斃死する。そのため斃死個体から抗体を検出することは稀である。欧州や中南米で分離された野外株の一部では亜急性あるいは慢性の病態を示すことが知られており、このような事例では病勢に応じて症状が軽減するとともに致死率も低下し、耐過する個体も出現するようになる^{11, 20-24}。さらに長期の経過をとる場合には血中に特異抗体が出現するとともにウイルス血症が改善傾向を示す²⁵。

外貌上の所見としては、通常、家畜豚は感染後2～7日程度の潜伏期を経て発症し、発熱(41℃以上)、チアノーゼ、沈鬱、食欲喪失を呈して数日のうちに死亡する。亜急性型あるいは慢性型では、経過の長期化に伴い、呼吸症候群、関節炎、皮膚炎等も現れる。また妊娠中の母豚では流産を認める。症状が重度になると血液の凝固不全に伴う出血傾向が強まり、天然孔や皮膚の創傷部位から出血を認める(図1)。しかし、これらの症状は患畜のすべてに共通して認められるわけではなく、また豚熱等の疾病と所見が酷似するため、診断に際しては専門機関における検査が必須である²⁶。

剖検時には、脾臓の腫大、(主に胃周囲の)リンパ節の腫大や暗赤色化、腸管漿膜面の点状出血等が認められるが、動物実験においてはこれらの所見はもとより発熱すら呈さ

ずに斃死する個体も認められ、剖検のみによる鑑定も困難である。

5. ASFVの構造と遺伝的特徴

ASFVは170,000-190,000塩基対に及ぶ直鎖状の二本鎖DNAをゲノムに持つ。この長大なゲノムには170種以上の遺伝子がコードされ、そのうち少なくとも60種を用いて粒子が形成される²⁷⁻²⁹。ゲノムは株によって多様性の大きい5'-および3'-側末端領域(それぞれ約15,000および35,000塩基対)と比較的保存性の高い中央部から成るが、中央部にも株ごとに多数の変異が存在する。ASFVのゲノムには自身の複製に利用するDNA polymerase I等の酵素遺伝子群やそれらを制御する転写調節遺伝子群等に加えて、例えば、DNA polymerase X遺伝子やmultigene family (MGF) 100/110/300/360/500遺伝子群といった、他の生物種には認められないユニークな遺伝子が多数コードされており³⁰⁻³¹、その多くは未だに機能が知られていない。

ASFVの粒子は粒子径260-300nmの正二十面体構造をとり、最外層に宿主細胞の細胞膜に由来するエンベロープ(外部エンベロープ)を持つ²⁸⁻²⁹。ゲノムDNAに富む核様体(nucleoid;第1層)を中心に、内側から順にコアシェル(第2層)、脂質内膜(内部エンベロープ;第3層)、カプシド(第4層)がこれを覆い、エンベロープ(第5層)が粒子全体を包み込む多層構造をとっている(図2)。最近の粒子構造の解析により、カプシドはP72(pB646L)と呼ばれる主要なタンパク質とP17, P49, pM1249L^{脚注4}, pH240R等の約60種の微量なタンパク質を含むカプシドタンパク質17,280分子から構成されること²⁸、内部のコアシェルがPP220と呼ばれるポリプロテインの開裂により生じるP150, P37, P34, P14およびP14.5, P10等の多様な分子種から構成されること等が明らかにされている³²。

コアシェルを取り囲む脂質内膜上にはウイルス由来のタンパク質であるP54, P22, P17等が存在し、粒子形成に関与する³⁴。最外層の外部エンベロープにもpEP402R,

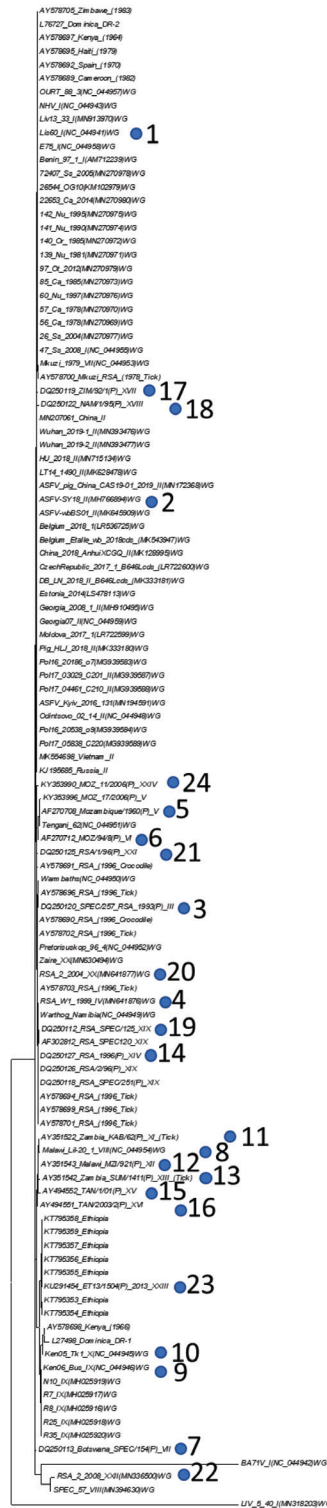


図3 P72 遺伝子配列に基づく ASFV 株の系統樹

ClustalW でアライメントを行い、MEGA 7 (Ver.7.0.26) を用いて最尤法により作成した。数字は代表株の遺伝子型を示す。

pE153R, P12 等の膜タンパク質が組み込まれ、抗原性の決定や宿主への侵入、血球凝集性(後述)等に関与する³⁵⁻³⁷⁾。ただし、このエンベロープの有無は ASFV の感染性には

影響しない³⁸⁻³⁹⁾。

ASFV の株の分類は一般的に P72 カプシドタンパク質の遺伝子配列に基づいて行われ、現在 24 種類の遺伝子型が

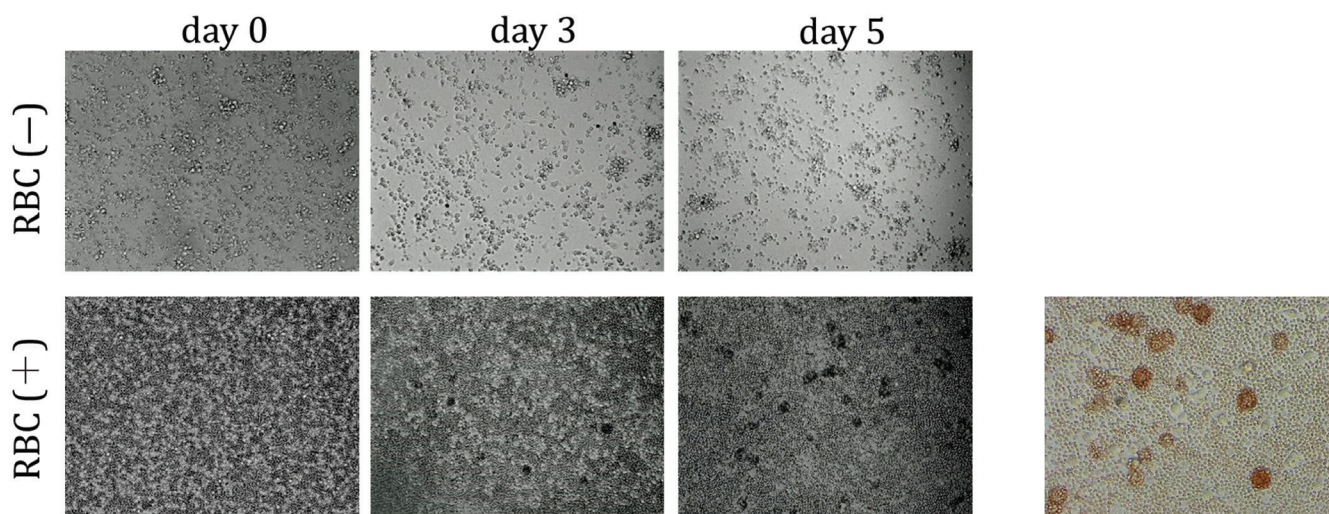


図4 ASFV 強毒株を接種した豚肺胞マクロファージ初代培養 (PAM) における細胞変性効果 (CPE; 上段) と赤血球吸着反応 (HAD 反応; 下段)

PAM に豚赤血球を添加することで HAD によるロゼットが形成され観察が容易になる。欄外に拡大像を示す。

知られている (図 3)。ASFV は遺伝子型ごとに地理的な分布が異なり、アフリカ東部および南部には多様な遺伝子型の株が存在するが、西アフリカから中央アフリカにかけては概ね I 型に限られる。1957 年、60 年の欧州、中南米での流行はいずれも I 型株によるもの、2007 年から現在に至る世界的な流行はモザンビーク / ザンビア / マダガスカル分離株に近縁の II 株による⁴⁰⁾。なお、遺伝子型はウイルス株の病原性や免疫学的特徴とは無関係である。

遺伝子型以外の型別の方法としては、赤血球の凝集性に基づく型別法が知られる。ASFV のエンベロープ上に存在する pEP402R は、哺乳動物のリンパ球表面抗原である CD2 タンパク質との相同性から CD2v (v はウイルス由来を示す) と呼ばれ、ヒト CD2 が CD58 (マウスでは CD48) と結合するのと同様に豚の赤血球表面に存在する CD58 と結合してこれを凝集させる⁴¹⁻⁴³⁾。この反応は赤血球吸着反応 (Haemadsorption; HAD) と呼ばれる ASFV に特異的な現象で、ASF の診断や ASFV の力価測定に用いられる (図 4)。Rock らは、様々なウイルス株由来の CD2v に対する特異抗体を用いて、抗体による HAD 阻害の有無を検討し、ウイルス株が少なくとも 7 つのグループに区別できることを示した⁴⁴⁻⁴⁵⁾。この分類は遺伝子型による分類とは関連性がない。また CD2v 遺伝子に変異、欠損のあるウイルス株も分離されており、これらの株には適用できない。その他に ASFV 粒子を認識する単クローン抗体を用いた型別なども試みられているが¹¹⁾、ウイルスの地域分布や病原性などの特徴と有意な関連が認められず、一般的ではない。

特筆すべき点として、ASFV には他のウイルスで知られる中和抗体による型別、いわゆる血清型が存在しないこと

が挙げられる。これは抗体 (抗血清) に *in vitro* (あるいは *in vivo*) でウイルス感染を中和、阻害する活性が認められないことによる。

6. ウイルスの増殖過程

ASFV 感染の主要な標的細胞はイノシシ科動物の単球・マクロファージおよび樹状細胞であり、CD163 を発現している⁴⁶⁻⁴⁸⁾。スカベンジャー受容体である CD163 の発現レベルと ASFV 感受性には相関がみられるが^{22, 49)}、ASFV は CD163 遺伝子を欠損させた豚にも感染することから、侵入門戸として必須ではない⁵⁰⁻⁵¹⁾。宿主細胞への侵入機序の詳細は明らかではないが、クラスリン (clathrin) およびダイナミン (dynamin) 依存性のエンドサイトーシスならびに受容体非依存性のピノサイトーシスが主な侵入経路であると考えられている⁵²⁻⁵⁶⁾。侵入は素早く起こり、*in vitro* の試験では、接種 1~15 分後には細胞質にウイルス粒子が検出される⁵⁷⁾。侵入後はエンドソーム / リソソーム依存的に細胞質の内部へと送られ、接種 30~45 分後には外部エンベロープの離脱、次いでカプシドの脱殻が起こ

脚注 4

ASFV のゲノム中の遺伝子の名称は open reading frame (ORF) がコードするタンパク質の大きさや機能、既知タンパク質との相同性等によって表記されるほか、Rodriguez (1992) らにより提案された命名法³³⁾によって表される。この表記法では、まずウイルスのゲノムを Eco RI 切断した際に得られる断片について、長いものから順に A~Z のアルファベット記号を当て、次いで断片 A がゲノムの左方に来るように全ての断片を整列、配置する。任意の ORF の名称は 5' 末端のコドンを含む断片のアルファベット記号、コードされるアミノ酸残基の数および読み枠の方向 (右向き; R, 左向き L) で表記される。

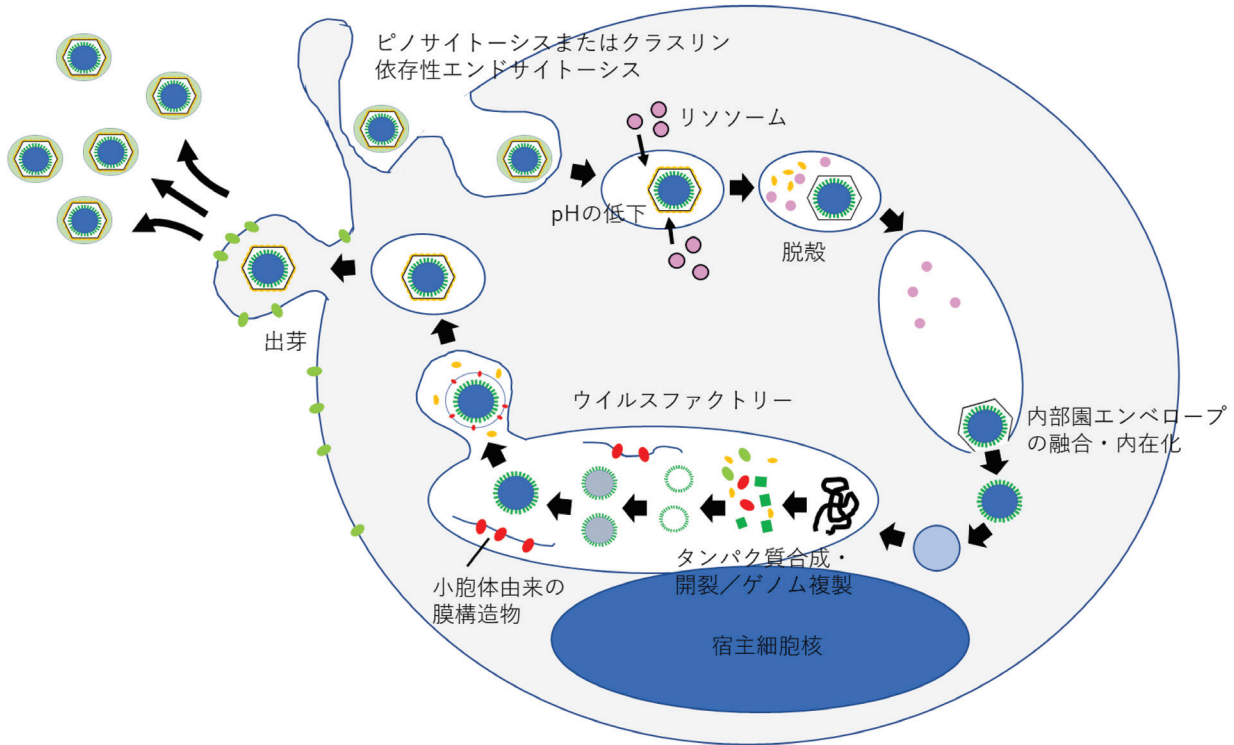


図5 ASFVの侵入・増幅・出芽過程の模式図

る。脱殻したビリオンは脂質内膜上に局在するpE248R依存的にエンドソームの膜と融合し、内部のコアシェルが原形質内へと放出（内在化）される。内在化したコアシェルは宿主細胞核の近傍へと運ばれ、順次、初期・中期・後期transcription factorが活性化されて、ウイルスタンパク質をコードするRNAの合成が進行する⁵⁴⁾。その結果、宿主細胞核の近傍に”viral factories（ウイルスファクトリー；VF）”と呼ばれる構造体が形成され、ここでウイルス由来のDNA polymerase Iによるゲノムの複製、構造タンパク質の合成ならびに粒子形成が行われる。VFは小胞体由来する膜構造物に富み、ウイルス粒子の構成成分の局在と濃度の維持ならびに粒子形成の促進に寄与する⁵⁸⁾。VFの内部では後期タンパク質であるポリプロテインPP220の合成とシステインプロテアーゼpS273RによるP150, P37, P34およびP14への開裂が生じ、同様にPP62の開裂によって生じるP35, P15とともにDNAを取り囲む新たなコアシェル（第2層）が形成される⁵⁹⁻⁶⁰⁾。コアシェルは核様体（第1層）を取り込み（あるいは内部でゲノムDNAが濃縮され）、次いでVF内に充満した膜構造物からなる脂質内膜（第3層）およびP72等のタンパク質からなるカプシド（第4層）が形成され、微小管に沿って細胞膜へと運ばれる。

一方、ウイルス由来のエンベロープタンパク質であるpEP402Rは、C-末端側ドメインを介して宿主由来のアクチ

ン結合タンパク質であるSH3P7と結合し、細胞膜へと輸送される。細胞膜に輸送されたpEP402Rは、出芽の際にpE153RやP12等とともにエンベロープタンパク質として粒子に取り込まれる⁶¹⁾。ASFVの侵入・増幅・出芽の過程を模式図として図5に示す。

7. 宿主細胞の応答とその阻害

ASFVの感染に際して主要な標的細胞であるマクロファージは、I型インターフェロン（IFN-I）、インターロイキン-1（IL-1）、腫瘍壊死因子- α （TNF- α ）等のサイトカインを産生して免疫担当細胞の動員・活性化を図るとともに、アポトーシス機構を発動して病原体の増殖を抑制し、排除する。一方、ウイルス側も種々の戦略を駆使してこれらの防御システムに対抗し、自らの生存を図る。ASFVのゲノムには宿主の防御機構を阻害するタンパク質が複数コードされ、それらの作用によって宿主細胞からの攻撃を逃れる。pA238Lは宿主の免疫応答に重要なNF- κ Bの抑制因子であるI κ Bと相同性が高く、アンキリンリピート配列を介してNF- κ Bと不可逆的に結合し、その機能を抑制する⁶²⁾。NF- κ BはIFN-Iの転写調節に寄与するため、pA238Lは結果的にIFN-I産生も抑制する。また、pA238Lはカルシニューリンに対する阻害を介して活性化T細胞転写因子（NFAT）やco-activatorであるp300/CBPの転写を阻害し⁶³⁻⁶⁵⁾、下流にある応答機構を抑制するととも

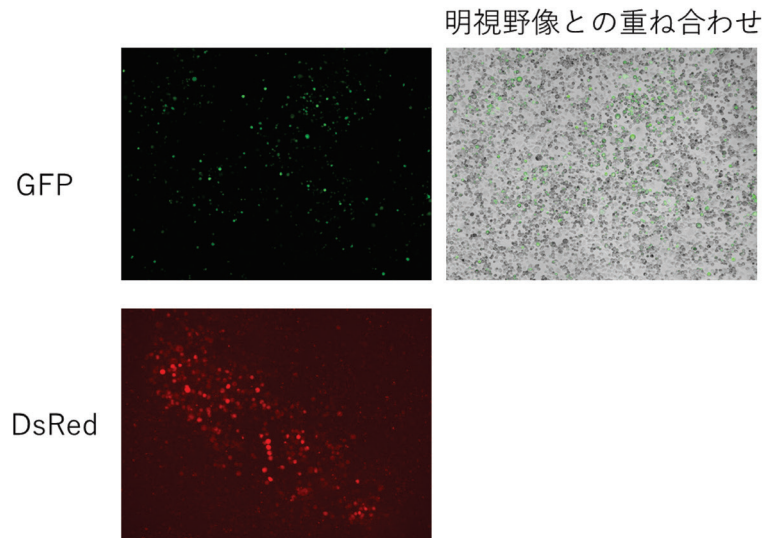


図6 ゲノム編集により作成した ASFV 遺伝子改変株

遺伝子型 II 型の Armenia 2007 株の Thymidine kinase 遺伝子領域に緑色蛍光タンパク質 (GFP) および赤色蛍光タンパク質 (DsRed) 遺伝子を挿入し、単離したウイルス。

に TNF- α の産生を低下させることで一酸化窒素合成酵素やシクロオキシゲナーゼの産生を抑える⁶⁶⁻⁶⁸⁾。

IFN-I 産生の抑制には、pA238L の他、multigene gene family (MGF) 360/505/530 遺伝子群のタンパク質も関与する。MGF360-15R 遺伝子がコードする pA276R は、Toll like receptor-3 (TLR-3) のリン酸化を阻害して IFN-I の産生を阻止する⁶⁹⁻⁷⁰⁾。また、MGF505-7R 遺伝子がコードする pA528R も IRF-3 および NF- κ B のリン酸化を阻害して IFN-I 産生を抑制することに加え、JAK-STAT 経路の活性化を阻害することで IFN-I 産生を阻害する⁶⁹⁾。また Parkhouse らのグループは pI329L が TLR-3 のアダプター分子である TRIF の不活化を介して TLR-3 依存的な IFN- β の分泌を抑制することを報告している⁷¹⁻⁷²⁾。

これらの遺伝子の機能は当該遺伝子を欠損した野外株あるいは人為的な改変を加えた組換え株等を用いた動物試験でも確かめられている。例えば MGF 遺伝子群の構成は株ごとに多様で、弱毒株においてしばしば欠損が認められることから病原性関連遺伝子 (群) であると考えられている。他方、単一もしくは少数の遺伝子領域の変異や欠損だけでは接種後のウイルス血症や臨床症状を完全に抑制することは難しく、機能を補完する代替機構の存在が示唆される^{70, 73-74)}。

感染マクロファージにおけるアポトーシスの阻害も ASFV の重要な生存戦略のひとつである。pA179L は Bcl-2 と相同なモチーフ (Bcl-2 homology region; BH) を有し、同じく BH を有する Bim, Bid, Bmf 等のアポトーシス誘導因子と結合してそれらを阻害するとともに、Bcl-2 等の抗アポトーシス因子の作用を助ける⁷⁵⁻⁷⁷⁾。また、アポトーシス阻害タンパク質 (inhibitor of apoptosis protein; IAP)

として知られる pA224L も TNF- α によって誘導される Caspase-3 依存性のアポトーシスを抑制する⁷⁸⁻⁷⁹⁾。この作用機序は明らかではないが、NF- κ B の活性化、宿主由来の IAP および Bcl-2 の転写亢進に関与していると推察される。

8. 防疫とワクチン

現時点で本病に効果的なワクチンは開発されておらず、防疫はウイルスの早期検知と患畜の摘発淘汰ならびに農場バイオセキュリティの確保に重点を置くことになる。これらの実施により、長期間を要したものの 1950 年代、60 年代の欧州・中南米の流行は概ね撲滅され、また現在の流行においても、少なくともチェコでは感染イノシシの囲い込み等の対策とあわせて 1 年以内には清浄化が果たされたことから、これらの防疫措置の有効性は明らかである。しかし、迅速な検知や家畜の淘汰には獣医サービスの充実や損失補償制度の導入が必要であり、バイオセキュリティの強化には二重柵の設置等、施設整備の費用負担が求められるため実効性が確保できない場合が多い。また発生時にあっては、多頭数の豚を処分することによって生産基盤が棄損され、豚肉の価格や供給に長期的影響を与えかねない⁸⁰⁻⁸¹⁾。そのため本病に有効なワクチンの開発が世界的にも強く望まれている。

他の多くの感染症と同様に、ASF 研究の初期には感染耐過豚や弱毒株感染豚の血清を用いた血清療法等も試みられたが、病原性株の防御には殆ど効果が無く⁸²⁻⁸⁵⁾、ASF の防御においては抗体の寄与は限定的だと考えられている⁸⁶⁻⁸⁷⁾。その一方で、感染に耐過した豚に同じウイルス株を再度接

種するとその殆どが臨床症状を呈することなく生存することが知られ、この現象に何らかの株特異的な病原体排除機構が関わっていると推察される⁸⁸⁻⁸⁹⁾。Ouraらは、抗ブタCD8抗体を用いて感染耐過豚のCD8+T細胞を除去すると上述のような同一株の再感染に対する免疫効果が失われることから、株特異的な防御にCD8+T細胞が関与すると結論付けている⁹⁰⁾。ただし、ASFVの再感染の阻止はあくまでも同系統のウイルス株に対してのみ成立する現象であり、異なる系統のウイルスに対しては機能しない^{44,91-92)}。

ワクチンの開発研究では、これまで不活化ワクチン、DNAワクチン、サブユニットワクチンあるいはアデノウイルスやワクチニアウイルスを用いたベクターワクチンなど様々なワクチンが検討されてきたが、いずれも十分な効果を示すに至っておらず、現時点では弱毒生ワクチンが最も有望なアプローチであると考えられている⁹³⁻¹⁰⁰⁾。自然変異によって弱毒化された株としてはOURT88/3株やNH/P68株(いずれもI型)がよく研究されている^{89,101-103)}。これらの株を接種した豚では急性症状は見られず、同型のI型株や遺伝子型の異なるII型株の攻撃に対して一定の防御能を示すものの、1/4から半数の豚でワクチン接種後日数を置いてから発熱、ウイルス血症(およびウイルスの体外排泄)、抗ウイルス抗体価の上昇、慢性的な関節炎や皮膚の点状壊死、呼吸障害、肺炎等の症状を認め、完全な無毒化には至っていないことが報告されている^{89,100,104)}。一方、Barasonaらは2017年にラトビアで野生イノシシから分離されたCD2v遺伝子変異株(Lv17/WB/Rie1,II型)が、経口接種で豚に病原性を示すことなく、同型(II型)の病原性株による攻撃を完全に阻止したことから、経口ワクチンの候補株となり得ると述べている¹⁰⁵⁾。

天然の弱毒変異株はさらなる突然変異や病原性株とのゲノム交換によって病原性が復帰する可能性が懸念されることから、近年は相同組換えやゲノム編集を利用した人為的な遺伝子改変株の樹立が試みられており^{73,106-108)}、我々の研究室でもゲノム編集を用いてマーカー遺伝子を挿入した種々の遺伝子改変ウイルスを作製している(図6)。改変ウイルスの作製には自然変異した弱毒株を材料にして、さらにA238L, A224L, EP153R, A276あるいはMGF等の特定の病原性関連遺伝子を欠失させたものや⁷³⁻⁷⁴⁾、強毒株であるGerogia2007株(II型), Benin 97株, Ba71株(ともにI型)のゲノムの複数の遺伝子を改変したもの等が報告されている^{70,67,79,92,109-112)}。Borcaらは機能未知ながら病原性に関与することが推察されるI177L遺伝子を相同組換えにより置換した改変型Gerogia2007株(ASFV-G-ΔI117L株)が豚に副作用を示すことなく、低用量(10^2 HAD₅₀/頭)で接種後28日目の親株による攻撃を完全に防御したことを報告し¹¹³⁾、またChenらも中国国内の流行株であるHLJ/18株をもとにゲノム上の2つの領域にある計7つのORF(MFG505-1/2/3R, 360-12/13/14R, CD2v)を欠

失させた弱毒改変株(HLJ/18-7GD株)を樹立し、これが豚に対する病原性を失っていること、ならびにHLJ/18株による攻撃を完全に防御することを示した¹¹⁴⁾。現時点ではまだ親株とは異なる遺伝子型の病原性株に対する防御能は検討されておらず、また免疫後に僅かにウイルス血症が認められること等から、今後の検討や改良が期待される。

9. ASFの診断

治療法や予防法がないASFの発生に際しては、早期検知による患畜の迅速な淘汰が唯一の対策となる。農場で発生した場合はチアノーゼや血液の凝固不全の亢進に伴う出血等、特徴的な症状を示す個体が見られることもあるが、これらの症状は感染からある程度の日数を経過した患畜で見られることが多く、甚急性、急性に経過した個体は明瞭な所見を示さず死亡することも少なくない。またウイルスの伝播は口蹄疫やCSFに比べて遅いため発生初期には明瞭な症状を呈する個体は稀であり、外貌所見のみでASFを検知することは困難である。加えてCSF、オーエスキー病、豚丹毒、豚胸膜性肺炎等との類症鑑別も問題となる。ウイルスの病原性にもよるが、ASF非流行地での発生は概ね急性に経過するため、診断は抗原の検出に重点が置かれる。ASFVの検出にはウイルス分離、蛍光標識抗体による染色、ELISA等が用いられるが²⁶⁾、迅速性、簡便性、正確性の観点から通常はPCRによる遺伝子検査(コンベンショナルPCR, リアルタイムPCR)が行われる^{89,115-116)}。ASFVのゲノムの塩基配列は一流行期中であっても予想外に多くの変異が生じる可能性があり¹¹⁷⁾、変異個所によっては既存のPCR検査では検出不能となる例がある点に注意を要する¹¹⁸⁾。そのため通常は複数の検査を実施して確定することになる。国内の農場で疑い事例が報告された場合には、農林水産省が定める「アフリカ豚熱に関する特定家畜伝染病防疫指針」¹¹⁹⁾に沿って、都道府県の家畜防疫員が立入り検査を実施し、得られた検体について基幹家畜保健衛生所がコンベンショナルPCRによる一次検査を実施する。陰性が否定できない場合には検体を当所に送付して確定検査を実施する。なお、一連の検査は野生イノシシにも適用可能である。

一方、抗体検査は検出率が低く、診断上の意義は高くないものの、発生終息後の清浄性の確認を目的としたサーベイランスに際しては豚およびイノシシを対象に実施することが求められる¹²⁰⁾。

おわりに

21世紀に入り、我々にとっては遠い異国の感染症であったASFが突如として欧州、ロシアを経てアジアにもたらされ、侵入防止とまん延阻止に向けた体制の充実は待たなしの状況にある。現在流行しているASFVは毒性が非常に強く致死率はほぼ100%に達するが、治療法は勿論の

こと、有効なワクチンも実用化されていない。ワクチン開発が困難な理由としては、ASFVが極めてユニークなウイルスであり他の病原体との類似性が低いこと、抗体による中和が困難なこと、コードする遺伝子が多種多様であり増殖サイクルが複雑なこと、ウイルスの取り扱いに厳密な封じ込め措置が求められること、適当な動物実験モデルが無いこと等様々な理由が挙げられるが、着実な基礎研究の積み重ねとゲノム編集等の新たな技術の利用により、これらの難題は次第に解消されていくものと期待される。本病の世界的な流行を受けて欧米、ロシア、中国等によるワクチン開発への大規模な予算ならびに研究リソースの投入も始まり¹²¹⁾、開発研究は次第に加速している。我々のグループもASF研究における課題の解決に努め、ワクチンの実用化に資する新たな知見や技術を提供していきたい。

利益相反

本稿に関連して開示すべき利益相反状態にある企業等はありません。

参考文献

- Montgomery RE. On a form of swine fever occurring in British East Africa (Kenya Colony). *J Comp Path Therap* 34:159-191. 1921.
- Plowright W. African swine fever: a retrospective view. *Rev Sci Tech Off Int Epiz* 5:455-468. 1986.
- Iyer LM, Balaji S, Koonin EV, Aravind L. Evolutionary genomics of nucleocytoplasmic large DNA viruses. *Virus Res* 117:156-84. 2006.
- International Committee on Taxonomy of Viruses. <https://talk.ictvonline.org/>
- Reteno DG, Benamar S, Khalil JB, Andreani J, Armstrong N, Klose T, Rossmann, Colson P, Raoult D, La Scolacor B. Faustovirus, an Asfarvirus-related new lineage of giant viruses infecting amoebae. *J Virol* 89: 6585-6594. 2015.
- Klose T, Reteno DG, Benamar S, Hollerbach A, Colson P, La Scola B, Rossmann MG. Structure of faustovirus, a large dsDNA virus *Proc Natl Acad Sci USA* 113:6206-6211. 2016.
- Chenais E, Ståhl K, Guberti V, Depner K. Identification of wild boar-habitat epidemiologic cycle in African swine fever epizootic. *Emerg Infect Dis* 24:810-812. 2018.
- Netherton CL, Connell S, Benfield CTO, Dixon LK. The genetics of life and death: Virus-host interactions underpinning resistance to African swine fever, a viral hemorrhagic disease. *Front Genet* 10:402. 2019.
- Chen K, Baxter T, Muir WM, Groenen MA, Schook LB. Genetic Resources, Genome Mapping and Evolutionary Genomics of the Pig (*Sus scrofa*). *Int J Biol Sci* 3:153-165. 2007.
- Wilkinson PJ. African swine fever virus. In virus infections of vertebrates. vol.2: "Virus infections of porcines." (Ed. Penjaert MB) pp17-35. (Elsevier) 1989.
- Sánchez-Cordón PJ, Montoya M, Reis AL, Dixon LK. African swine fever: A re-emerging viral disease threatening the global pig industry. *Vet J* 233:41-48. 2018.
- EFSA Scientific opinion on African swine fever, EFSA *J* 8:1556. 2010.
- Mazur-Panasiuk N, Żmudzki J, Woźniakowski G. African Swine Fever Virus - Persistence in Different Environmental Conditions and the Possibility of its Indirect Transmission. *J Vet Res* 63:303-310. 2019.
- Van Schepen MD, Kunesh JP. African swine fever: An overview. *Iowa State Vet* 43:100-107. 1981.
- Costard S, Wieland B, Glanville W, Jori F, Rowlands R, Vosloo W, Roger F, Pfeiffer DU, Dixon LK. African swine fever: how can global spread be prevented? *Philos. Trans R Soc B Biol Sci* 27:2683-2696. 2009.
- OIE World Animal Health Information Database (WAHIS) Interface. https://www.oie.int/wahis_2/public/wahid.php/Wahidhome/Home
- Chenais, E, Ståhl K, Guberti V, Depner K. Identification of wild boar-habitat epidemiologic cycle in African swine fever epizootic. *Emerg Infect Dis* 24:810-812. 2018.
- Masujin K, Yamazoe R, Kameyama K, Fujisawa N, Kobayashi Y, Iwata S, Senba H, Yamada M, Kokuho T, Yanagisawa N, Yamakawa M. The isolation of African swine fever virus from seized animal products at the animal quarantine station. *Proc Jpn Pig Vet Soc* 74:7-14. 2019.
- 環境省 全国のニホンジカ及びイノシシの個体数推定等の結果について（令和元年度）<https://www.env.go.jp/press/107256.html>
- Blome S, Gabriel C, Beer M. Pathogenesis of African swine fever in domestic pigs and European wild boar. *Virus Res* 173:122-130. 2013.
- Gómez-Villamandos JC, Bautista MJ, Sánchez-Cordón PJ, Carrasco L. Pathology of African swine fever: The role of monocyte-macrophage. *Virus Res* 173:140-149. 2013.
- Sánchez-Vizcaino JM, Mur L, Gomez-Villamandos JC, Carrasco L. An update on the epidemiology and pathology of African swine fever. *J Comp Pathol* 152:9-21. 2015.
- Pan IC, Hess WR. Virulence in African swine fever: Its measurements and implication. *American Journal Vet Res* 45:361-366. 1984.
- Mebus CA. and Dardiri AH. 1979. Additional characteristics of disease caused by the African swine fever viruses isolated from Brazil and the Dominican Republic. In: *Proc Annu Meet U Anim Health Assoc* 83: 227-239.
- Gallardo C, Fernández-Pinero J, Arias M. African swine fever (ASF) diagnosis, an essential tool in the epidemiological investigation. *Virus Res* 271:197676. 2019.
- OIE African swine fever (infection with African swine fever virus). *Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals* (8th Ed.), Chapter 3.8.1. 2018.

- 27) Yáñez RJ, Rodríguez JM, Nogal ML, Yuste L, Enríquez C, Rodríguez JF, Viñuela E. Analysis of the Complete Nucleotide Sequence of African Swine Fever Virus. *Virology* 208:249-78. 1995.
- 28) Wang N, Zhao D, Wang J, Zhang Y, Wang M, Gao Y, Li F, Wang J, Bu Z, Rao Z, Wang X. Architecture of African swine fever virus and implications for viral assembly. *Science* 366:640-644. 2019.
- 29) Andrés G, Charro D, Matamoros T, Dillard RS, Abrescia NGA. The cryo-EM structure of African swine fever virus unravels a unique architecture comprising two icosahedral protein capsids and two lipoprotein membranes. *J Biol Chem* 295:1-12. 2020.
- 30) Alejo A, Matamoros T, Guerra M, Andrés G. A proteomic atlas of the African swine fever virus particle. 2018 *J Virol* 92:e01293-18. 2018.
- 31) Keßler C, Forth JH, Keil GM, Mettenleiter TC, Blome S, Karger A. The intracellular proteome of African swine fever virus. *Sci Rep* 8:14714. 2018.
- 32) Salas ML, Andrés G. African swine fever virus morphogenesis. *Virus Res* 173:29-41. 2013.
- 33) Rodríguez JM, Salas ML, Viñuela E. Genes homologous to ubiquitin-conjugating proteins and eukaryotic transcription factor SII in African swine fever virus. *Virology* 186:40-52. 1992.
- 34) Rodríguez JM, García-Escudero R, Salas ML, Andrés G1, J. *Virol.* 2004 78, 4299-4313.
- 35) Galindo IF, Almazán F, Bustos MJ, Viñuela E, Carrascosa AL. African swine fever virus EP153R open reading frame encodes a glycoprotein involved in the hemadsorption of infected cells. *Virology* 266:340-351. 2000.
- 36) Rodríguez JM, Yáñez RJ, Almazán F, Viñuela E, Rodríguez JF. African swine fever virus encodes a CD2 homolog responsible for the adhesion of erythrocytes to infected cells. *J Virol* 67:5312-5320. 1993.
- 37) Carascosa, AL, Sastre I, Viñuela E. African swine fever virus attachment protein. *J Virol* 65:2283-2289. 1991.
- 38) Andrés G, García-Escudero R, Viñuela E, Salas ML, Rodríguez JM. African swine fever virus structural protein pE120R is essential for virus transport from assembly sites to plasma membrane but not for infectivity. *J Virol* 75:6758-6768. 2001.
- 39) Schloer, G. M. Polypeptides and structure of African swine fever virus. *Virus Res* 3:295-310. 1985.
- 40) Lubisi BA, Bastos ADS, Dwarka RM, Vosloo W. Molecular epidemiology of African swine fever in East Africa. *Arch Virol* 150:2439-2452. 2005.
- 41) Barclay AN. Biochemical analysis of the lymphocyte cell surface from alloantisera to the role of membrane proteins. *Immunol Rev* 184:69-81. 2001.
- 42) van der Merwe PA, Barclay AN, Mason DW, Davies EA, Morgan BP, Tone M, Krishnam AK, Ianelli C, Davis SJ. Human cell-adhesion molecule CD2 binds CD58 (LFA-3) with a very low affinity and an extremely fast dissociation rate but does not bind CD48 or CD59. *Biochemistry* 33:10149-10160. 1994.
- 43) Kato K, Koyanagi M, Okada H, Takanashi T, Wong YW, Williams AF, Okumura K, Yagita H. CD48 is a counter-receptor for mouse CD2 and is involved in T cell activation. *J Exp Med* 176:1241-1249. 1992.
- 44) Malmqvist MA. Serologic and immunogenic studies with African swine fever virus. *Am J Vet Res* 24:450-459. 1963.
- 45) Malogolovkin A, Burmakina G, Tulman ER, Delhon G, Diel DG, Salnikov N, Kutish GF, Kolbasov D, Rock DL. African swine fever virus CD2v and C-type lectin gene loci mediate serological specificity. *J Gen Virol* 96:866-873. 2015.
- 46) Sánchez-Torres C, Gómez-Puertas P, Gómez-del-Moral M, Alonso F, Escribano JM, Ezquerro A, Domínguez J. Expression of porcine CD163 on monocytes/macrophages correlates with permissiveness to African swine fever infection. *Arch Virol* 148:2307-2323. 2003.
- 47) Gregg DA, Mebus CA, Schlafer DH. Early infection of interdigitating dendritic cells in the pig lymph node with African swine fever viruses of high and low virulence: immunohistochemical and ultrastructural studies. *J Vet Diagn Investig* 7:23-30. 1995.
- 48) Franzoni G, Graham SP, Sanna G, Angioi P, Fiori MS, Anfossi A, Amadori M, Dei Giudici S, Oggiano A. Interaction of porcine monocyte-derived dendritic cells with African swine fever viruses of diverse virulence. *Vet Microbiol* 216:190-197. 2018.
- 49) McCullough KC, Basta S, Knötig S, Gerber H, Schaffner R, Kim YB, Saalmüller A, Summerfield A. Intermediate stages in monocyte-macrophage differentiation modulate phenotype and susceptibility to virus infection. *Immunology* 98:203-212. 1999.
- 50) Lithgow P, Takamatsu H, Werling D, Dixon L, Chapman D. Correlation of cell surface marker expression with African swine fever virus infection. *Vet Microbiol* 168:413-419. 2014.
- 51) Popescu L, Gaudreault NN, Whitworth KM, Murgia MV, Nietfeld JC, Mileham A, Samuel M, Wells KD, Prather RS, Rowland RRR. Genetically edited pigs lacking CD163 show no resistance following infection with the African swine fever virus isolate, Georgia 2007/1. *Virology* 501:102-106. 2017.
- 52) Alcamí A, Carrascosa AL, Viñuela E. The entry of African swine fever virus into Vero cells. *Virology* 171:68-75. 1989.
- 53) Valdeira ML, Bernardes C, Cruz B, Gerales A. Entry of African swine fever virus into Vero cells and uncoating. *Vet Microbiol* 60:131-140. 1998.
- 54) Hernández B, Guerra M, Salas ML, Andrés G. African swine fever virus undergoes outer envelope disruption, capsid disassembly and inner envelope fusion before core release from multivesicular endosomes. *PLoS Pathog* 12:e1005595. 2016.
- 55) Andrés G. African swine fever virus gets undressed: New insights on the entry pathway. *J Virol* 91:e01906-16. 2017.
- 56) Sánchez EG, Quintas A, Pérez-Núñez D, Nogal M, Barroso S, Carrascosa AL, Revilla Y. African swine fever virus uses macropinocytosis to enter host cells. *PLoS Pathog* 8:e1002754. 2012.

- 57) Cuesta-Geijo MA, Galindo I, Hernández B, Quetglas JJ, Dalmau-Mena I, Alonso C. Endosomal maturation, Rab7 GTPase and phosphoinositides in African swine fever virus entry. *PLoS ONE* 7:e48853. 2012.
- 58) Stefanovic S, Windsor M, Nagata KI, Inagaki M, Wileman T. Vimentin rearrangement during African swine fever virus infection involves retrograde transport along microtubules and phosphorylation of vimentin by calcium calmodulin kinase II. *J Virol* 79:11766-11775. 2005.
- 59) Andrés G, Simón-Mateo C, Viñuela E. Assembly of African swine fever virus: Role of polyprotein pp220. *J Virol* 71:2331-41. 1997.
- 60) Andrés G, Alejo A, Salas J, Salas ML. African swine fever virus polyproteins pp220 and pp62 assemble into the core shell. *J Virol* 76:12473-82. 2002.
- 61) Goatley LC, Dixon LK. Processing and localization of the African swine fever virus CD2v transmembrane protein. *J Virol* 85:3294-3305. 2011.
- 62) Powell PP, Dixon LK, Parkhouse RM. An IkappaB homolog encoded by African swine fever virus provides a novel mechanism for downregulation of proinflammatory cytokine responses in host macrophages. *J Virol* 70:8527-8533. 1996.
- 63) Miskin JE, Abrams CC, Goatley LC, Dixon LK. A viral mechanism for inhibition of the cellular phosphatase calcineurin. *Science* 281:562-565. 1998.
- 64) Miskin JE, Abrams CC, Dixon LK. African swine fever virus protein A238L interacts with the cellular phosphatase calcineurin via a binding domain similar to that of NFAT. *J Virol* 74:9412-9420. 2000.
- 65) Granja AG, Sánchez EG, Sabina P, Fresno M, Revilla Y. African swine fever virus blocks the host cell antiviral inflammatory response through a direct inhibition of PKC-theta-mediated p300 transactivation. *J Virol* 83:969-980. 2009.
- 66) Granja AG, Nogal ML, Hurtado C, Salas J, Salas ML, Carrascosa AL, Revilla Y. Modulation of p53 cellular function and cell death by African swine fever virus. *J Biol Chem* 279:53736-53746. 2004.
- 67) Granja AG, Sabina P, Salas ML, Fresno M, Revilla Y. Regulation of inducible nitric oxide synthase expression by viral A238L-mediated inhibition of p65/RelA acetylation and p300 transactivation. *J Immunol* 176:451-462. 2006.
- 68) Granja AG, Perkins ND, Revilla Y. A238L inhibits NF-ATc2, NF-kappa B, and c-Jun activation through a novel mechanism involving protein kinase C-theta-mediated up-regulation of the amino-terminal transactivation domain of p300. *J Immunol* 180:2429-2442. 2008.
- 69) Correia S, Ventura S, Parkhouse RM. Identification and utility of innate immune system evasion mechanisms of ASFV. *Virus Res* 173:87-100. 2013.
- 70) O'Donnell V, Holinka LG, Gladue DP, Sanford B, Krug PW, Lu X, Arzt J, Reese B, Carrillo C, Risatti GR, Borca MV. 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* 89:6048-6056. 2015.
- 71) de Oliveira VL, Almeida SC, Soares HR, Crespo A, Marshall-Clarke S, Parkhouse RM. A novel TLR3 inhibitor encoded by African swine fever virus (ASFV). *Arch Virol* 156:597-609. 2011.
- 72) Henriques ES, Brito RM, Soares H, Ventura S, de Oliveira VL, Parkhouse RM. Modeling of the Toll-like receptor 3 and a putative Toll-like receptor 3 antagonist encoded by the African swine fever virus. *Protein Sci* 20:247-255. 2011.
- 73) Abrams CC, Goatley L, Fishbourne E, Chapman D, Cooke L, Oura CA, Netherton CL, Takamatsu HH, Dixon LK. Deletion of virulence associated genes from attenuated African swine fever virus isolate OUR T88/3 decreases its ability to protect against challenge with virulent virus. *Virology* 443:99-105. 2013.
- 74) Gallardo C, Sánchez EG, Pérez-Núñez D, Nogal M, de León P, Carrascosa AL, Nieto R, Soler A, Arias ML, Revilla Y. African swine fever virus (ASFV) protection mediated by NH/P68 and NH/P68 recombinant live-attenuated viruses. *Vaccine* 36:2694-2704. 2018.
- 75) Brun A, Rivas C, Esteban M, Escribano JM, Alonso C. African swine fever virus gene A179L, a viral homologue of bcl-2, protects cells from programmed cell death. *Virology* 225:227-230. 1996.
- 76) Revilla Y, Cebrián A, Baixeras E, Martínez C, Viñuela E, Salas ML. Inhibition of apoptosis by the African swine fever virus Bcl-2 homologue: role of the BH1 domain. *Virology* 228:400-404. 1997.
- 77) Banjara S, Caria S, Dixon LK, Hinds MG, Kvensakul M. Structural insight into African swine fever virus A179L-mediated inhibition of apoptosis. *J Virol* 91:e02228-16. 2017.
- 78) Neilan JG, Lu Z, Kutish GF, Zsak L, Burrage TG, Borca MV, Carrillo C, Rock DL. A BIR motif containing gene of African swine fever virus, 4CL, is nonessential for growth in vitro and viral virulence. *Virology* 230:252-264. 1997.
- 79) Reis AL, Goatley LC, Jabbar T, Sanchez-Cordon PJ, Netherton CL, Chapman DAG, Dixon LK. 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* 91:e01428-17. 2017.
- 80) Mason-D'Croz D, Bogard JR, Herrero M, Robinson S, Sulser TB, Wiebe K, Willenbockel D, Godfray HCJ. Modelling the global economic consequences of a major African swine fever outbreak in China. *Nature Food* 1:221-228. 2020.
- 81) 高橋寛. 中国 ASF の状況と国内豚肉の相場. *Pig J* 23(3):52-55. 2020.
- 82) Stone SS, DeLay PD, Sharman EC. The antibody response in pigs inoculated with attenuated African swine fever virus. *Can J Comp Med* 32:455-460. 1968.
- 83) Schlafer DH, McVicar JW, Mebus CA. African swine fever convalescent sows: subsequent pregnancy and the effect of colostral antibody on challenge inoculation of their pigs. *Am J Vet Res* 45:1361-1366. 1984.

- 84) Wardley RC, Norley SG, Wilkinson PJ, Williams S. The role of antibody in protection against African swine fever virus. *Vet Immunol Immunopathol* 9:201-212. 1985.
- 85) Onisk, DV, Borca MV, Kutish G, Kramer E, Irusta P, Rock DL. Passively transferred African swine fever virus antibodies protect swine against lethal infection. *Virology* 198:350-354. 1994.
- 86) Sánchez EG, Pérez-Núñez D, Revilla Y. Development of vaccines against African swine fever virus. *Virus Res* 265:150-155. 2019.
- 87) Sánchez-Cordón PJ, Montoya M, Reis AL, Dixon LK. African swine fever: A re-emerging viral disease threatening the global pig industry *Vet J* 233:41-48. 2018.
- 88) Revilla Y, Pena L, Viñuela E. Interferon-gamma production by African swine fever virus-specific lymphocytes. *Scand J Immunol* 35:225-230. 1992.
- 89) King, K, Chapman D, Argilagué JM, Fishbourne E, Hutet E, Cariolet R, Hutchings G, Oura CAL, Nether-ton CL, Moffat K. Protection of European domestic pigs from virulent African isolates of African swine fever virus by experimental immunisation. *Vaccine* 29:4593-4600. 2011
- 90) Oura CAL, Denyer MS, Takamatsu H, Parkhouse RME. In vivo depletion of CD8+ T lymphocytes abrogates protective immunity to African swine fever virus. *J Gen Virol* 86:2445-2450. 2005.
- 91) Sereda AD, Balyshev VM, Kazakova AS, Imatdinov AR, Kolbasov DV. Protective properties of attenuated strains of African swine fever virus belonging to sero-immunotypes I-VIII. *Pathogens* 9:274.
- 92) Monteagudo PI, Lacasta A, Lopez F, Bosch E, Collado J, Pina-Pedrero S, Corre-Fiz F, Accensi F, Navas MJ, Vidal E, Bustos MJ, Rodriguez JM, Gallei A, Nikolin V, Salas ML, Rodriguez F. BA71DeltaCD2: A new recombinant live attenuated African swine fever virus with cross-protective capabilities. *J Virol* 91:21. 2017.
- 93) Detray DE. African swine fever. *Adv Vet Sci* 8:299-333. 1963.
- 94) Stone SS, Hess WR. Antibody response to inactivated preparations of African swine fever virus in pigs. *Am J Vet Res* 28:475-481. 1967.
- 95) Mebus CA. African swine fever. *Adv Virus Res* 35:251-269. 1988.
- 96) Gómez-Puertas P, Rodríguez F, Oviedo JM, Brun A, Alonso C, Escribano JM. The African swine fever virus proteins p54 and p30 are involved in two distinct steps of virus attachment and both contribute to the antibody-mediated protective immune response. *Virology* 243:461-471. 1998.
- 97) Neilan JG, Zsak L, Lu Z, Burrage TG, Kutish GF, Rock DL. Neutralizing antibodies to African swine fever virus proteins p30, p54, and p72 are not sufficient for antibody-mediated protection. *Virology* 319:337-342. 2004.
- 98) Argilagué JM, Pérez-Martín E, Gallardo C, Salguero FJ, Borrego B, Lacasta A, Accensi F, Díaz I, Nofrarias M, Pujols J, Blanco E, Pérez-Filgueira M, Escribano JM, Rodríguez F. Enhancing DNA immunization by targeting ASFV antigens to SLA-II bearing cells. *Vaccine* 29:5379-5385. 2011.
- 99) Lacasta A, Ballester M, Monteagudo PL, Rodríguez JM, Salas ML, Accensi F, Pina-Pedrero S, Bensaid A, Argilagué J, López-Soria S, Hutet E, Le Potier MF, Rodríguez F. Expression library immunization can confer protection against lethal challenge with African swine fever virus. *J Virol* 88:13322-13332. 2014.
- 100) Sunwoo SY, Pérez-Núñez D, Morozov I, Sánchez EG, Gaudreault NN, Trujillo JD, Mur L, Nogal M, Madden D, Urbaniak K, Kim IJ, Ma W, Revilla Y, Richt JA. DNA-Protein Vaccination Strategy Does Not Protect from Challenge with African Swine Fever Virus Armenia 2007 Strain. *Vaccines* 7:12. 2019.
- 101) Leitão A, Cartaxeiro C, Coelho R, Cruz B, Parkhouse RME, Portugal FC, Vigário JD, Martins, CLV. 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* 82:513-523. 2001.
- 102) Gallardo C, Soler A, Nieto R, Mur L, Perez C, Pelayo V, Martins C, Sanchez-Vizcaino JM, Arias M. Protection of European domestic pigs from Armenia virulent African swine fever virus by experimental immunisation using the attenuated and non-haemadsorbing African swine fever virus isolate ASF/NH/P68. In *Proc IX Int Congress Vet Virol Madrid, Spain pp4-7*. 2012.
- 103) Arias M, de la Torre A, Dixon LK, Gallardo C, Jori F, Laddomada A, Martins C, Parkhouse RME, Revilla Y, Rodriguez F. Approaches and perspectives for development of African swine fever virus vaccines. *Vaccines* 5:35. 2017.
- 104) Gallardo C, Soler A, Nieto R, Sánchez MA, Martins C, Pelayo V, Carrascosa A, Revilla Y, Simón A, Briones V, Sánchez-Vizcaino JM, Arias M. Experimental transmission of African swine fever (ASF) low virulent isolate NH/P68 by surviving pigs. *Transbound Emerg Dis* 62:612-622. 2015.
- 105) Barasona JA, Gallardo C, Cadenas-Fernández E, Jurado C, Rivera B, Rodríguez-Bertos A, Arias M, Sánchez-Vizcaino JM. First oral vaccination of Eurasian wild boar against African swine fever virus genotype II. *Front Vet Sci* 26:137. 2019.
- 106) Zsak L, Lu Z, Kutish GF, Neilan JG, Rock DL. An African swine fever virus virulence-associated gene NL-S with similarity to the herpes simplex virus ICP34.5 gene. *J Virol* 70:8865-8871. 1996.
- 107) Hübner A, Petersen B, Keil GM, Niemann H, Mettenleiter TC, Fuchs W. Efficient inhibition of African swine fever virus replication by CRISPR/Cas9 targeting of the viral p30 gene (CP204L). *Sci Rep* 8:1449. 2018
- 108) Borca MV, Holinka LG, Berggren KA, Gladue DP. CRISPR-Cas9, a tool to efficiently increase the development of recombinant African swine fever viruses. *Sci Rep* 8:3154. 2018.
- 109) O'Donnell V, Holinka LG, Krug PW, Gladue DP, Carlson

- J, Sanford B, Alfano M, Kramer E, Lu Z, Arzt J, Reese B, Carrillo C, Risatti GR, Borca MV. 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* 89:8556-8566. 2015.
- 110) O'Donnell V, Holinka LG, Sanford B, Krug PW, Carlson J, Pacheco JM, Reese B, Risatti GR, Gladue DP, Borca MV. African swine fever virus Georgia isolate harboring deletions of 9GL and MGF360/505 genes is highly attenuated in swine but does not confer protection against parental virus challenge. *Virus Res* 221:8-14. 2016.
- 111) O'Donnell V, Risatti GR, Holinka LG, Krug PW, Carlson J, Velazquez-Salinas L, Azzinaro PA, Gladue DP, Borca MV. 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* 91:e01760-16. 2017.
- 112) Reis AL, Abrams CC, Goatley LC, Netherton C, Chapman DG, Sanchez-Cordon P, Dixon LK. 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* 34:4698-4705. 2016.
- 113) Borca MV, Medina ER, Silva E, Vuono E, Rai A, Pruitt S, Holinka LG, Lauro Velazquez Salinas LV, Zhu J, Gladue DP. 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* 94:e02017-19. 2020.
- 114) Chen W, Zhao D, He X, Liu R, Wang Z, Zhang X, Li F, Shan D, Chen H, Zhang J, Wang L, Wen Z, Wang X, Guan Y, Liu J, Bu Z. A seven-gene-deleted African swine fever virus is safe and effective as a live attenuated vaccine in pigs. *Sci China Life Sci* 63:623-634. 2020.
- 115) Aguero M, Fernandez J, Romero L, Sanchez C, Arias M, Sanchez-Vizcaino JM. Highly sensitive PCR assay for the routine diagnosis of African swine fever virus in clinical samples. *J Clin Microbiol* 41:4431-4434. 2003.
- 116) Fernandez-Pinero J, Gallardo C, Elizalde M, Robles A, Gomez C, Bishop R, Heath L, Couacy-Hymann E, Fasina FO, Pelayo V, Soler A, Arias M. Molecular diagnosis of African Swine Fever by a new real-time PCR using universal probe library. *Transbound Emerg Dis* 60:48-58. 2013.
- 117) Farlow J, Donduashvili M, Kokhreidze M, Kotorashvili A, Vepkhvadze NG, Kotaria N, Gulbani A. Intra-epidemic genome variation in highly pathogenic African swine fever virus (ASFV) from the country of Georgia. *Virol J* 15:190. 2018.
- 118) Tran HTT, Dang AK, Ly DV, Vu HT, Hoang TV, Nguyen CT, Chu NT, Nguyen VT, Nguyen HT, Truong AD, Pham NT, Dang HV. An improvement of real-time PCR system based on probe modification is required for accurate detection of African swine fever virus in clinical samples in Vietnam. *Asian-Australas J Anim Sci* 2019. doi: 10.5713/ajas.19.0525.
- 119) 農林水産省 アフリカ豚熱に関する特定家畜伝染病防疫指針（令和2年2月5日公表）https://www.maff.go.jp/j/syouan/douei/katiku_yobo/k_bousi/attach/pdf/index-24.pdf
- 120) OIE Terrestrial Animal Health Code (2019). Chapter 15.1. Infection with African swine fever virus. https://www.oie.int/index.php?id=169&L=0&htmfile=chapitre_asf.htm
- 121) VACDIVA: a safe DIVA vaccine for African Swine Fever control and eradication. The Community Research and Development Information Service (CORDIS), EU. <https://cordis.europa.eu/project/id/862874>

African swine fever

Takehiro KOKUHO

National Institute of Animal Health, National Agriculture and Food Research Organization

African swine fever (ASF) is a hemorrhagic infectious disease of Suids, which is endemic in sub-Saharan area of African continent. ASF is usually circulating sub-symptomatically among wild species of Suidae family, such as warthogs and bush pigs, by mediating *Ornithodoros* soft ticks. Domestic pigs (*Sus scrofa*) are, however, highly sensitive to the infection and show severe clinical signs with a high mortality rate, resulting a huge impact on pork production. Currently, there is no treatment or vaccine available. The etiological agent, ASFV, is highly resistant to environmental conditions, and resides in unheated pork meat or pork meat products for a long period, which may be a chance of its long-distance spread. Since August 2018, ASFV has been circulating in East and Southeast Asian countries and may possibly be introduced into Japan. Here, I describe the outline of the disease and the etiology of the pathogen in order to remind the importance of “awareness” and “preparedness” for the disease.