Biểu hiện gen của một số cytokine và chemokine trên tế bào đại thực bào phế nang lợn nhiễm vi rút dịch tả lợn châu Phi chủng tái tổ hợp genotype I và II phân lập tại Việt Nam

Nguyễn Thị Thu Hiền[1, 2], Bùi Thị Ngọc Ánh[1], Chu Thị Như[1], Đàm Quốc Khánh[1], Nguyễn Phương Linh[1], Trương Anh Đức[1*], Trần Thị Thanh Hà[1], Đặng Vũ Hoàng[1]

[1]Bộ môn Miễn dịch và Dịch tễ Thú y, Viện Chăn nuôi và Thú y Việt Nam, 86 Trường Chinh, phường Kim Liên, Hà Nội, Việt Nam
[2]Khoa Nông-Lâm-Ngư, Trường Đại học Nghệ An, 51 Lý Tự Trọng, phường Vinh Phú, tỉnh Nghệ An, Việt Nam

Ngày nhận bài 28/11/2025; ngày chuyển phản biện 3/12/2025; ngày nhận phản biện 26/12/2025; ngày chấp nhận đăng 9/1/2026

Tóm tắt:

Bệnh dịch tả lợn châu Phi (DTLCP) là bệnh truyền nhiễm nguy hiểm ở lợn với tỷ lệ tử vong lên đến 100%, gây thiệt hại kinh tế nghiêm trọng. Hiện nay, hiệu quả của các vắc-xin còn hạn chế, đặc biệt với chủng tái tổ hợp genotype I/II, việc hiểu rõ cơ chế miễn dịch của vật chủ là vô cùng cấp thiết. Nghiên cứu đánh giá sự biểu hiện gen của các cytokine và chemokine trong tế bào đại thực bào phế nang lợn (PAMs) nhiễm vi rút DTLCP tái tổ hợp bằng phương pháp qRT-PCR. Kết quả cho thấy, nhóm cytokine kháng vi rút (IFN-γ, IFN-α, IFN-β, TNF-α) tăng mạnh, đạt đỉnh tại 48 giờ sau nhiễm (hpi) và duy trì đến 72 hpi. Các cytokine tiền viêm (IL-1α, IL-1β, IL-12p40, IL-17A) tăng rõ rệt từ 6 đến 48 hpi, đóng vai trò khởi phát và khuếch đại đáp ứng viêm. Đồng thời, nhóm Th2 cytokine (IL-4, IL-10, IL-11, IL-13) đạt mức tối đa ở 24-48 hpi, giúp cân bằng phản ứng viêm và thúc đẩy miễn dịch dịch thể. Các chemokine (CCL2, CCL3, CCL14, CXCL9) đều tăng đáng kể, đặc biệt CXCL9 đạt đỉnh sớm ở 24 hpi, hỗ trợ huy động tế bào miễn dịch. Nghiên cứu chỉ ra sự điều hòa chặt chẽ giữa cytokine và chemokine trong giai đoạn 24-48 hpi, cung cấp cơ sở khoa học quan trọng để hiểu rõ cơ chế kiểm soát vi rút và điều hòa miễn dịch thích ứng đối với chủng DTLCP tái tổ hợp tại Việt Nam.

Từ khóa: **biểu hiện gen, chemokine, cytokine, dịch tả lợn châu Phi, đại thực bào phế nang lợn.**

Chỉ số phân loại: **1.6, 4.3**

Gene expression of selected cytokines and chemokines on porcine alveolar macrophage cells infected with recombinant genotype I and II strains of African swine fever virus isolated in Vietnam

Thi Thu Hien Nguyen[1, 2], Thi Ngoc Anh Bui[1], Thi Nhu Chu[1], Quoc Khanh Dam[1], Phuong Linh Nguyen[1], Anh Duc Truong[1*], Thi Thanh Ha Tran[1], Vu Hoang Dang[1]

[1]Department of Veterinary Immunology and Epidemiology, Vietnam Institute of Animal and Veterinary Sciences, 86 Truong Chinh Street, Kim Lien Ward, Hanoi, Vietnam
[2]Faculty of Agriculture, Forestry and Fisheries, Nghe An University, 51 Ly Tu Trong Street, Vinh Phu Ward, Nghe An Province, Vietnam

Received 28 November 2025; revised 26 December 2025; accepted 9 January 2026

Abstract:

African swine fever (ASF) is a serious infectious disease in pigs, with mortality rates reaching 100% and causing severe economic losses. Currently, the efficacy of available vaccines remains limited, particularly against the recombinant ASF virus (ASFV) genotype I/II strains, making it essential to understand the host immune mechanisms involved. This study evaluated the gene expression of selected cytokines and chemokines in porcine alveolar macrophages (PAMs) infected with recombinant ASFV genotype I/II strains using quantitative real-time PCR (qRT-PCR). The results demonstrated that the antiviral cytokines (IFN-γ, IFN-α, IFN-β, and TNF-α) were strongly upregulated, peaking at 48 hours post-infection (hpi) and remaining elevated until 72 hpi. Pro-inflammatory cytokines (IL-1α, IL-1β, IL-12p40, and IL-17A) increased significantly between 6 and 48 hpi, contributing to the initiation and amplification of the inflammatory response. Concurrently, Th2 cytokines (IL-4, IL-10, IL-11, and IL-13) reached peak levels at 24-48 hpi, helping to balance the inflammatory response and promote humoral immunity. The chemokines (CCL2, CCL3, CCL14, and CXCL9) exhibited substantial increases, with CXCL9 peaking early at 24 hpi, supporting the recruitment of immune cells. These findings indicate tight regulation of cytokines and chemokines during the 24-48 hpi, providing an important scientific basis for understanding viral control mechanisms and the regulation of adaptive immunity against recombinant ASFV strains in Vietnam.

Keywords: **African swine fever, chemokine, cytokine, gene expression, porcine alveolar macrophages.**

Classification numbers: **1.6, 4.3**

[*]Tác giả liên hệ: Email: truonganhduc84@gmail.com

1. Đặt vấn đề

Bệnh dịch tả lợn châu Phi (DTLCP; African swine fever: ASF) là bệnh truyền nhiễm nguy hiểm do vi rút chỉ gây bệnh ở lợn nuôi và lợn rừng, không gây bệnh cho các loài động vật khác, lợn nhiễm bệnh có khả năng chết lên đến 100%, gây tác động lớn đến ngành chăn nuôi lợn và kinh tế đối với các nước phát triển và đang phát triển [1, 2]. Bệnh DTLCP có khả năng lây lan nhanh, gây thiệt hại lớn, không lây nhiễm và gây bệnh ở người, vi rút có sức đề kháng cao, tồn tại lâu ở ngoài môi trường và trong các sản phẩm của lợn, bệnh lây lan trực tiếp từ lợn bệnh sang lợn chưa mắc bệnh, sản phẩm lợn mang mầm bệnh, hoặc gián tiếp qua các loài vật chủ trung gian mang mầm bệnh (ve, mòng, côn trùng, gặm nhấm, chim di cư...) [3], các phương tiện vận chuyển, thức ăn chăn nuôi, dụng cụ chăn nuôi và cả yếu tố con người [2-5]. Năm 2007, bệnh xuất hiện ở Georgia, sau đó lan rộng ra các nước đông Âu như Nga, Belarus, Ukraine, Estonia, Litva, Latvia, Romania, Moldova, Cộng hòa Séc và Ba Lan [6]. Tại châu Á, bệnh DTLCP lần đầu tiên được phát hiện tại Trung Quốc vào đầu tháng 8/2018 [7], sau đó là tại Mông Cổ vào đầu tháng 1/2019, Campuchia vào tháng 4/2019, Hàn Quốc vào tháng 5/2019, Việt Nam vào tháng 2/2019, Lào vào tháng 6/2019, Philippines vào tháng 7/2019, Myanmar vào tháng 8/2019, Đông Timor vào tháng 9/2019 và Ấn Độ vào tháng 5/2020 [8]. Năm 2021, các chủng vi rút DTLCP genotype I có độc lực thấp đã được phát hiện ở lợn Trung Quốc. Các chủng này không có khả năng hấp phụ hồng cầu (HAD) và có sự tương đồng về mặt di truyền với chủng NH/P68 được báo cáo ở Bồ Đào Nha vào những năm 1960. Đến năm 2023, chủng vi rút DTLCP tái tổ hợp kiểu gen I và II (chủng lai) đã được báo cáo và mô tả đầy đủ ở Trung Quốc. Vào cuối năm 2023, các ASFV tái tổ hợp kiểu gen I và II này đã được báo cáo tại Việt Nam, nhưng khả năng đáp ứng miễn dịch ở cấp độ tế bào của các chủng lai vẫn chưa được đánh giá tại Việt Nam.

Cytokine giữ vai trò then chốt trong điều hòa miễn dịch bẩm sinh [9] và thích ứng của vật chủ khi nhiễm vi rút DTLCP [10]. Ngay sau khi xâm nhập, vi rút DTLCP nhân lên mạnh trong đại thực bào, kích thích giải phóng nhiều cytokine tiền viêm như TNF-α, IL-1β, IL-6, IL-8 [10, 11]. Những cytokine này có tác dụng khởi động phản ứng viêm, huy động bạch cầu trung tính, đại thực bào và tế bào lympho đến ổ nhiễm, góp phần kiểm soát vi rút giai đoạn đầu. Đồng thời, interferon nhóm I (IFN-α/β) và IFN-γ cũng đóng vai trò quan trọng trong ức chế sự nhân lên của vi rút, kích hoạt hoạt động kháng vi rút của đại thực bào và tế bào tiêu diệt tự nhiên (natural killer - NK) [11]. Tuy nhiên, vi rút DTLCP đã có sự thay đổi nhiều cơ chế ức chế sản xuất hoặc chặn tín hiệu của interferon và các cytokine kháng vi rút, giúp vi rút trốn thoát đáp ứng miễn dịch. Bên cạnh đó, sự mất cân bằng cytokine thường xảy ra của vật chủ nhiễm vi rút DTLCP [12]. Nồng độ cao kéo dài của các cytokine tiền viêm (IL-1β, TNF-α, IL-12) có thể dẫn đến tình trạng "bão cytokine", gây tổn thương mô, suy đa cơ quan và tăng tỷ lệ tử vong [13]. Ngược lại, một số cytokine chống viêm như IL-10 và IL4 lại được tăng cường, làm suy giảm chức năng của tế bào T và đại thực bào, tạo điều kiện cho vi rút nhân lên và lây lan trong cơ thể. Sự tương tác phức tạp giữa các cytokine tiền viêm và chống viêm không chỉ quyết định mức độ kiểm soát vi rút DTLCP mà còn ảnh hưởng đến tính trầm trọng của bệnh [13].

Cytokine vừa là công cụ thiết yếu giúp vật chủ khởi động và điều phối miễn dịch chống lại vi rút DTLCP, vừa là mục tiêu mà vi rút lợi dụng để né tránh hoặc làm rối loạn đáp ứng miễn dịch. Hiểu rõ vai trò và cơ chế điều hòa cytokine trong nhiễm vi rút DTLCP có ý nghĩa quan trọng cho việc tìm kiếm dấu ấn sinh học, xây dựng biện pháp điều trị hỗ trợ, cũng như phát triển vắc-xin hiệu quả trong phòng chống bệnh DTLCP. Về mục đích của nghiên cứu này, chúng tôi đánh giá mức độ biểu hiện của các cytokine và chemokine trong tế bào PAMs nhiễm vi rút DTLCP chủng lai (tái tổ hợp genotype I/II) và cung cấp một cái nhìn khái quát hơn về quá trình nhân lên của vi rút DTLCP trên tế bào.

2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Vật liệu

Tế bào Porcine alveolar macrophage (PAMs) được thu thập từ phổi lợn sạch theo công bố trước đây của nhóm nghiên cứu, số lượng tế bào lưu trữ là 5×10^6 tế bào/ml/ống [14].

Chủng vi rút DTLCP tái tổ hợp genotype I/II, serotype 8 (ký hiệu: ASFV/NIVR-38-2025) có nguồn gốc từ Lạng Sơn và được phân lập trên tế bào PAMs. Nồng độ vi rút DTLCP chủng NIVR-38-2025 là $3\times10^{6.5}$ HAD_{50}/ml.

Các hóa chất, sinh phẩm khác: Môi trường nuôi cấy tế bào Dulbecco's modified eagle's medium (DMEM, Thermo Fisher, Mỹ), kháng sinh, kháng nấm (Sigma, Mỹ), TRIzol (Invitrogen, Mỹ), kit tổng hợp cDNA (Thermo, Mỹ), SYBR® Green Master Mix (Roche, Mỹ), nước free RNA/DNA (Invitrogen, Mỹ), PBS (Sigma, Mỹ).

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp nuôi cấy tế bào PAMs và gây nhiễm vi rút DTLCP

Tế bào được nuôi trong môi trường Dulbecco's modified eagle's medium (DMEM, Thermo Fisher, Mỹ) trên đĩa 06 giếng, bổ sung thêm kháng sinh 100 IU/ml Ampicillin (100 mg/ml) và 10% huyết thanh bào thai bê sạch vô trùng (FBS, Invitrogen) và nuôi cấy trong điều kiện 5% CO_2 ở 37°C và được sử dụng ở nồng độ $1x10^6$ tế bào/ml/giếng.

Phương pháp chuẩn độ vi rút kết hợp phản ứng hấp phụ hồng cầu (HAD) dùng trong giám định vi rút DTLCP theo công bố trước đây của nhóm nghiên cứu [14]: Hiệu giá vi rút DTLCP chủng NIVR-38-2025 được tiến hành theo quy trình đã được nhóm nghiên cứu công bố trước đó. Theo đó, chủng NIVR-38-2025 được pha loãng thập phân theo cơ số 10 và sử dụng để gây nhiễm cho tế bào nuôi cấy trong đĩa 96 giếng, mỗi độ pha loãng được thử nghiệm trên 8 giếng tế bào đã được chuẩn bị sẵn với mật độ 2×10^5 tế bào/giếng. Sau 24 giờ gây nhiễm, hồng cầu lợn nồng độ 1% được bổ sung vào các giếng nuôi cấy nhằm phát hiện sự hiện diện của vi rút thông qua hiện tượng hình thành đám "hoa hồng", kết quả của quá trình hấp phụ hồng cầu lên bề mặt các tế bào PAMs nhiễm vi rút DTLCP. Hiệu giá vi rút được xác định dựa trên giá trị HAD_{50} (50% hấp phụ hồng cầu) sau 5 ngày gây nhiễm, và được biểu thị dưới dạng HAD_{50}/ml theo công thức đã được công bố trước đây. Nồng độ nhiễm trùng đa ổ (MOI) được tính bằng công thức: số lượng vi rút cho vào/số lượng tế bào.

Vi rút DTLCP chủng tái tổ hợp genotype I/II (NIVR-38-2025) được gây nhiễm trên tế bào PAMs ($1x10^6$ tế bào/ml/giếng/đĩa 6 giếng) với nồng độ 0,01 MOI, tế bào sau gây nhiễm được nuôi ở điều kiện 5% CO_2 ở 37°C. Thu tế bào sau gây nhiễm sau 6, 12, 24, 48 và 72 giờ để đánh giá biểu hiện của các cytokine và chemokine bằng cách ly tâm 2.000 vòng/phút trong vòng 5 phút thu cặn tế bào. Phương pháp real-time PCR theo khuyến cáo của Tổ chức Thú y Thế giới (WOAH - World Organisation for Animal Health) được sử dụng để xác định sự có mặt của vi rút DTLCP sau 6, 12, 24, 48 và 72 giờ gây nhiễm ở nồng độ 0,01 MOI trên tế bào PAMs.

2.2.2. Phương pháp tách chiết RNA và sinh tổng hợp cDNA từ tế bào PAMs

Thu thập tế bào PAMs sau gây nhiễm, tế bào được rửa qua PBS lạnh 2 lần, tách chiết RNA tổng số bằng TRIzol (Invitrogen) theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Tổng hợp cDNA, tổng số 2 µg RNA được loại bỏ DNA bằng cách thêm vào 1,0 đơn vị (unit) DNase I và 1,0 µl dung dịch đệm phản ứng 10x (Thermo Scientific), sau đó ủ 30 phút ở 37°C. Để dừng sự hoạt động của DNase I, bổ sung 1,0 µl dung dịch EDTA nồng độ 50 nM vào dung dịch và đun ở 65°C trong 10 phút. Sử dụng sản phẩm này để tổng hợp cDNA bằng bộ kit Maxima First Strand cDNA Synthesis Kit (Thermo Scientific), theo hướng dẫn của nhà sản xuất.

2.2.3. Phương pháp quantitative real-time PCR (qRT-PCR) xác định biểu hiện của gen cytokine và chemokine

Để đánh giá mức độ biểu hiện của các cytokine, chúng tôi thiết kế mồi cho phản ứng qRT-PCR sử dụng phần mềm Lasergene (DNASTAR, Mỹ) (bảng 1), và thực hiện phản ứng qRT-PCR bằng cách sử dụng 2×Ampigen SYBR Green Master Mix (Enzo Life Sciences, Farmingdale, NY, Mỹ), theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Gen GAPDH (glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase) của lợn được sử dụng là gen đối chứng tiêu chuẩn để tính toán mức độ biểu hiện của các gen thông qua quá trình tiêu chuẩn hóa chất lượng RNA. Mức độ biểu hiện của các gen được tính toán bằng phương pháp $2^{-\Delta\Delta Ct}$ thông qua mức độ biểu hiện của gen đối chứng GAPDH [15].

Bảng 1. Các cặp mồi trong phản ứng quantitative real-time PCR.

Gen	Trình tự các cặp mồi (5′-3′) F: mồi xuôi; R: mồi ngược	Mã số truy cập trên GenBank
GAPDH	F: ACACTCACTCTTCTACCTTTG R: CAAATTCATTGTCGTACCAG	NM_001206359.1
IFN-γ	F: CAGCTTTGCGTGACTTTGTG R: GATGAGTTCACTGATGGCTTT	X53085
IFN-α	F: CCCCTGTGCCTGGGAGAT R: AGGTTTCTGGAGGAAGAGAAGGA	XM_003480507.1
IFN-β	F: AGTTGCCTGGGACTCCTCAA R: CCTCAGGGACCTCAAAGTTCAT	GQ415073.1
TNF-α	F: CGTTGTAGCCAATGTCAAAGCC R: TGCCCAGATTCAGCAAAGTCCA	X54859
IL-1α	F: GTGCTCAAAACGAAGACGAACC R: CATATTGCCATGCTTTTCCCAGAA	NM_214029.1
IL-1β	F: TGAAGAGAGAAGTGGTGTTCTGC R: GGTACAGATTCTTTCCCTTGATCC	AJ747049
IL-12p40	F: GATGCTGGCCAGTACACC R: TCCAGCACGACCTCAATG	U08317
IL-17A	F: CAAGCGGTGGCGTTTTGCCT R: GTCTCCGTCGGGGATGGGCT	NM_001005729.1
IL4	F: ATCCCAACCCTGGTCTGC R: TCCTGTCAAGTCCGCTCA	X68330
IL-10	F: GCCTTCGGCCCAGTGAA R: AGAGACCCGGTCAGCAACAA	NM_214041.1
IL-11	F: CCGCACAGCTGAGAGACAAAT R: GCCTCAGGTAGGAAAACAGGT	XM_021095008.1
IL-13	F: GGTCATTGCTCTCACCTGCT R: GGGTGTCTTCTGGTTCTGGG	NM_213803.1
CCL2	F: GCGGCTGATGAGCTACAGAAG R: CCGCGATGGTCTTGAAGATC	NM_214214
CCL3	F: CTTCCTCGCAAATTCGTAGC R: GCATTCAGCTCCAGGTCAG	NM_001009579
CCL14	F: ACCCAGCACTTTTACCGAGG R: TGTCTGGAGCGCAAGAGAAG	NM_001256775
CXCL9	F: CTCAGCTTTTCCCGCAGAGT R: TTGGTGGCCTTCTTGTCAGG	NM_001114289

IL: Interleukin; IFN: Interferon; TNF: Tumor Necrosis Factor; CCL: C-C motif chemokine ligand, và CXCL: C-X-C motif chemokine ligand.

2.2.4. Xử lý số liệu

Số liệu được phân tích bằng phương pháp One-way ANOVA và được đánh giá so sánh sự khác biệt bằng phương pháp Tukey's multiple comparison test. Giá trị P<0,05 được xem là có ý nghĩa thống kê.

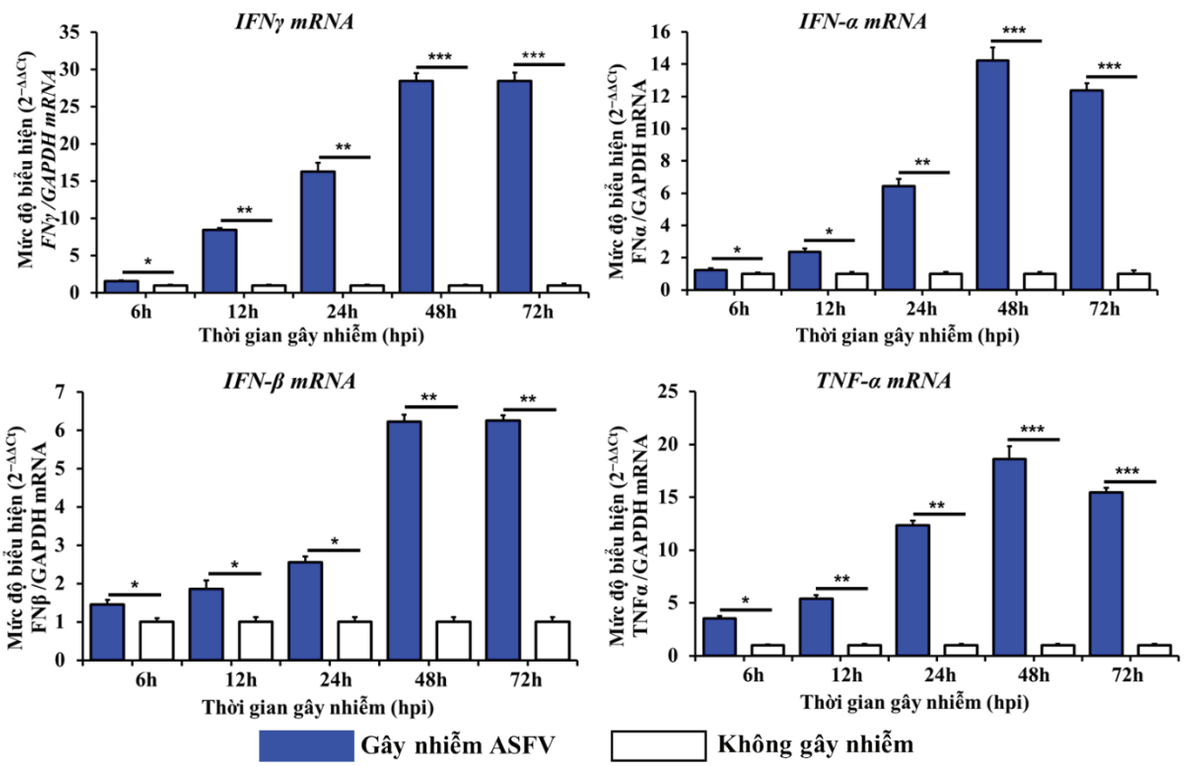
3. Kết quả và bàn luận

3.1. Sự biểu hiện của các IFN-s và TNF-α mRNA trong tế bào PAMs nhiễm vi rút DTLCP chủng tái tổ hợp genotype I/II

Trong nghiên cứu này, chúng tôi đánh giá mức độ biến đổi của gia đình gen Interferon (IFN-s) bao gồm IFN-α, IFN-γ, và IFN-β mRNA trong tế bào PAMs gây nhiễm vi rút DTLCP chủng lai (tái tổ hợp genotype I và II) với nồng độ gây nhiễm là 0,01 MOI. Kết quả thể hiện tại hình 1 cho thấy, IFN-α, IFN-γ và IFN-β mRNA đã tăng đáng kể sau 6 giờ gây nhiễm và kéo dài sau 72 giờ gây nhiễm (P<0,05), cụ thể IFN-α mRNA đã tăng từ 1,23 đến 14,23 lần sau 48 giờ gây nhiễm và tăng 10,04 sau 72 giờ gây nhiễm (P<0,05). IFN-γ và IFN-β mRNA đã tăng từ 1,56 đến 28,45 lần và từ 1,45 đến 6,45 lần sau 48 giờ gây nhiễm (P<0,01) và sau 72h gây nhiễm lần lượt là 28,25 lần và 6,25 lần (P<0,01) so với nhóm đối chứng không gây nhiễm (hình 1). Một số nghiên cứu gần đây đã chứng minh rằng, gia đình gen IFN-s bao gồm IFN-α, IFN-γ và IFN-β mRNA đóng vai trò quan trọng trong việc bảo vệ và ức chế sự gia tăng bệnh lý của vật chủ khi bị nhiễm mầm bệnh [10, 12, 16]. Hơn nữa, sự tăng biểu hiện của IFN-α, IFN-γ và IFN-β mRNA kích thích vật chủ sản sinh miễn dịch bẩm sinh và miễn dịch dịch thể thông qua việc kích thích sản sinh lớp Th1 cytokine và các cytokine khác có liên quan đến quá trình đáp ứng miễn dịch nhằm ngăn chặn sự gia tăng và sinh bệnh học của vật chủ [10, 11]. Ngoài ra, IFN-α, IFN-γ và IFN-β mRNA là yếu tố thiết yếu và là chất điều hòa quan trọng trong việc kích hoạt các con đường miễn dịch hoặc truyền tín hiệu để kiểm soát đáp ứng miễn dịch bẩm sinh của vật chủ đối với mầm bệnh như con đường truyền tín hiệu miễn dịch (immune signaling pathway) JAK-STAT, interferon nhóm I, MAPK hoặc NF-κβ signaling pathway [10, 14, 17]. Kết quả của nghiên cứu đã chứng minh rằng, mức độ biểu hiện của IFN-α, IFN-γ và IFN-β mRNA trong dòng tế bào PAMs đã tăng lên đáng kể sau khi gây nhiễm vi rút DTLCP chủng lai ở nồng độ 0,01 MOI sau 6 giờ sau nhiễm và kéo dài đến 72 giờ sau nhiễm. Những kết quả này chỉ ra rằng, sự gia tăng IFN-α, IFN-γ và IFN-β mRNA trong tế bào PAMs đóng vai trò quan trọng trong việc đáp ứng miễn dịch bẩm sinh và dịch thể của vật chủ trong đáp ứng miễn dịch đối với vật chủ nhiễm vi rút DTLCP.

TNF-α là một cytokine gây viêm được sản xuất bởi các tế bào miễn dịch như đại thực bào, bạch cầu đơn nhân hoặc tế bào lympho T và là một thành phần quan trọng của đáp ứng viêm đối với nhiều mầm bệnh khác nhau, bao gồm vi rút, vi khuẩn và ký sinh trùng [9, 18]. Nó cũng quan trọng đối với khả năng kháng nhiễm trùng in vivo và in vitro [9]. Cơ chế của TNF-α ở động vật đã được chứng minh rõ ràng ở chỗ nó ảnh hưởng đến quá trình sản xuất apoptosis, kích hoạt tín hiệu tế bào - tế bào, kích thích sản xuất một số cytokine gây viêm và sự di chuyển của các tế bào viêm đến các vị trí nhiễm trùng [19]. TNF-α hoạt động và liên kết với một số Th0, Th1, Th2 hoặc Th17 cytokine, trong đó các họ interferon đóng vai trò quan trọng, để tạo ra một đáp ứng miễn dịch qua trung gian tế bào hiệu quả đối với mầm bệnh [14, 19, 20]. Trong nghiên cứu này, tế bào PAMs được gây nhiễm vi rút DTLCP chủng lai (tái tổ hợp genotype I và II) với nồng độ gây nhiễm là 0,01 MOI, sau 6 giờ gây nhiễm biểu hiện của TNF-α mRNA tăng lên đáng kể (3,54 lần, P<0,05) và sự biểu hiện của TNF-α mRNA tăng cao nhất được ghi nhận sau 48 giờ, tăng 18,62 lần so với nhóm đối chứng không gây nhiễm (P<0,01) và sau 72 giờ sau gây nhiễm sự biểu hiện của TNF-α mRNA duy trì ở mức tăng 15,44 lần so với nhóm đối chứng (P<0,01) (hình 1).

Gần đây, một nghiên cứu đã chứng minh rằng, vai trò của TNF-α trong việc hoạt động và liên kết với các cytokine khác để kiểm soát đáp ứng miễn dịch qua trung gian tế bào đối với bệnh truyền nhiễm như cúm gia cầm ở gà và người [21]. Sự tăng lên của TNF-α mRNA trong tế bào PAMs gây nhiễm vi rút DTLCP chủng lai (tái tổ hợp genotype I và II) với nồng độ gây nhiễm là 0,01 MOI trong nghiên cứu của chúng tôi chỉ ra rằng, vai trò của TNF-α trong việc kiểm soát và hoạt động cùng với các cytokine khác trong việc tạo ra đáp ứng miễn dịch qua trung gian tế bào để chống lại vi rút DTLCP. Hơn nữa, mức độ biểu hiện mRNA của TNF-α và IFN-s trong tế bào PAMs có mối tương quan cao và điều này cho thấy rằng, sự kích hoạt và liên kết giữa IFN-s và TNF-α trong tế bào PAMs có thể kích ứng mức độ miễn dịch qua trung gian tế bào và miễn dịch dịch thể của vật chủ để kháng lại vi rút DTLCP.



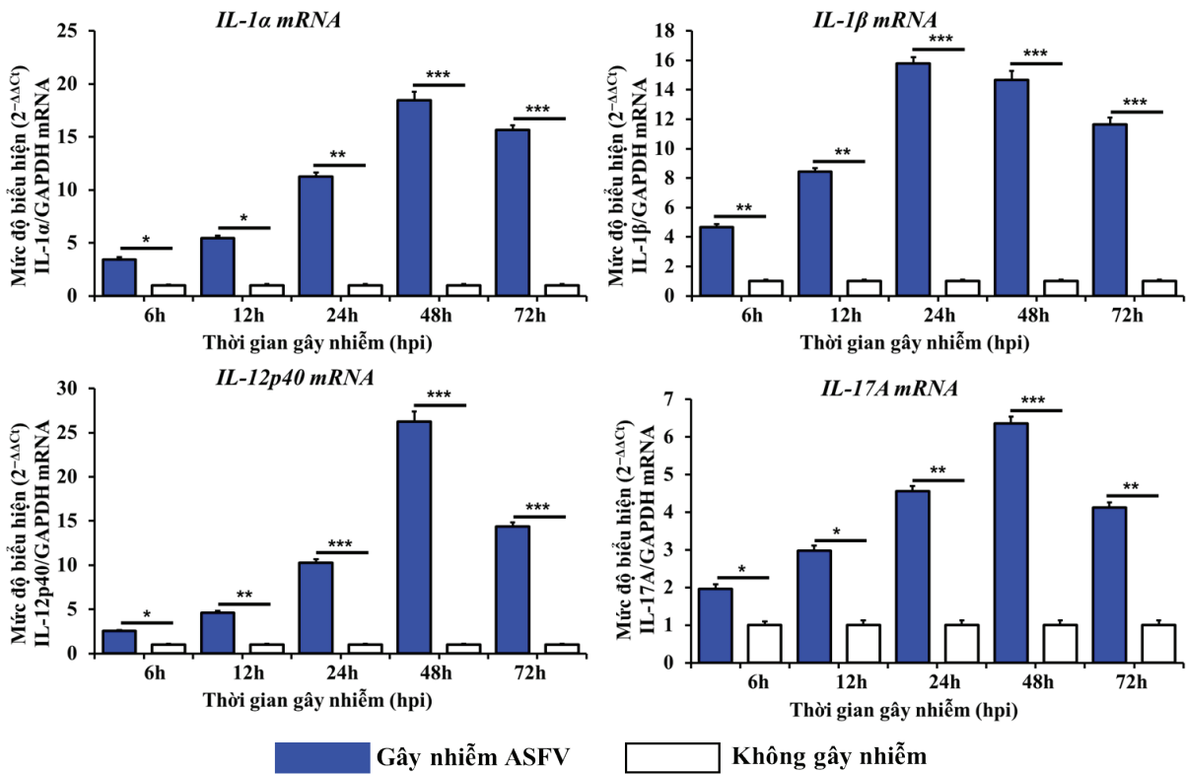
Hình 1. Sự biểu hiện của các IFNs và TNF-α mRNA trong tế bào PAMs nhiễm vi rút DTLCP chủng tái tổ hợp genotype I/II. Các ký tự * thể hiện sự khác nhau có ý nghĩa thống kê (*P<0,05; **P<0,01 và ***P<0,001).

3.2. Sự biểu hiện của các cytokine tiền viêm trong tế bào PAMs nhiễm vi rút DTLCP chủng tái tổ hợp genotype I/II

Các cytokine tiền viêm bao gồm IL-1α, IL-1β, IL-12p40 và IL-17A mRNA đóng vai trò quan trọng và điều hòa phản ứng miễn dịch bẩm sinh và miễn dịch qua trung gian tế bào đối với các bệnh truyền nhiễm và viêm mạn tính [10, 12, 20]. IL-1α, IL-1β, IL-12p40 và IL-17A mRNA kích thích sự tăng biểu hiện của các Th17 cytokine và gây ra hoặc liên quan đến sự biểu hiện của IFN nhóm I thông qua việc kích hoạt JAK-STAT, MAPK, ERK/AKT signaling pathway, sau đó kiểm soát và điều hòa phản ứng miễn dịch đối với mầm bệnh [10, 12, 20].

Trong nghiên cứu này, chúng tôi đánh giá mức độ biểu hiện của các cytokine tiền viêm bao gồm IL-1α, IL-1β, IL-12p40 và IL-17A mRNA trong tế bào PAMs gây nhiễm vi rút DTLCP chủng lai (tái tổ hợp genotype I và II) với nồng độ gây nhiễm là 0,01 MOI. Kết quả thể hiện tại hình 2 cho thấy, IL-1α, IL-1β, IL-12p40 và IL-17A mRNA đã tăng đáng kể sau 6 giờ gây nhiễm và kéo dài sau 72 giờ gây nhiễm (P<0,05) và tăng cao nhất được ghi nhận sau 48 giờ gây nhiễm vi rút DTLCP chủng lai. Cụ thể, IL-1α mRNA đã tăng từ 3,45 đến 18,43 lần từ 6 đến 48 giờ gây nhiễm và giảm xuống còn 15,67 lần sau 72 giờ gây nhiễm so với nhóm đối chứng không gây nhiễm (P<0,05). IL-1β mRNA đã tăng 4,67 lần sau 6 giờ gây nhiễm (P<0,01), sau 24 giờ tăng 15,78 lần (P<0,001) và giảm xuống sau 72 giờ chỉ còn tăng 11,65 lần (P<0,001) so với nhóm đối chứng. IL-12p40 và IL-17A mRNA có xu hướng tăng tương đối giống nhau, mức độ biểu hiện của IL-12p40 và IL-17A mRNA sau 6 giờ tăng lần lượt là 2,56 và 1,96 lần (P<0,05), tăng cao nhất sau 48 giờ lần lượt là 26,23 và 6,35 lần (P<0,001), sau đó giảm mức độ biểu hiện sau 72 giờ gây nhiễm với vi rút DTLCP chủng lai (hình 2).

Kết quả của nghiên cứu cho thấy, sự biểu hiện cao của IL-1α, IL-1β, IL-12p40 và IL-17A mRNA trong tế bào PAMs của lợn nhiễm vi rút DTLCP chủng lai, làm rõ vai trò của IL-1α, IL-1β, IL-12p40 và IL-17A mRNA trong việc kiểm soát phản ứng miễn dịch đối với vi rút DTLCP và liên quan đến các cytokine khác trong việc tạo ra phản ứng miễn dịch qua trung gian tế bào đối với



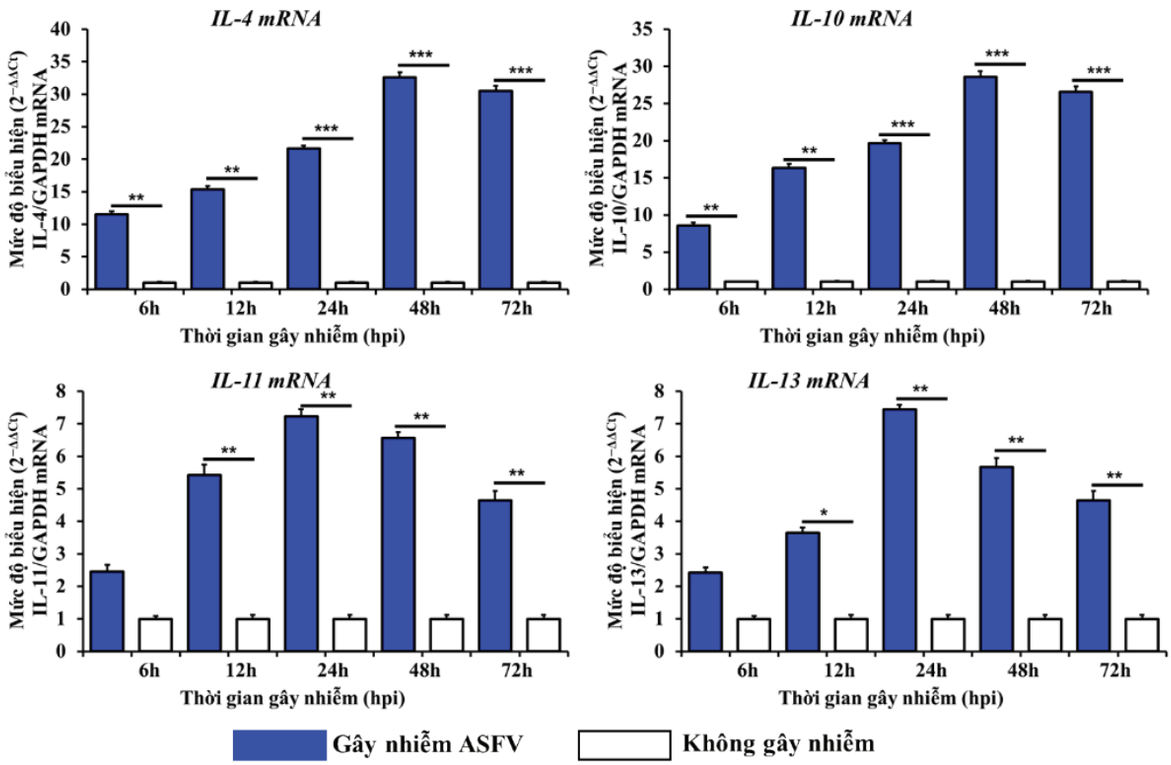
Hình 2. Sự biểu hiện gen của các cytokine tiền viêm trong tế bào PAMs nhiễm vi rút DTLCP chủng tái tổ hợp genotype I/II. Các ký tự * thể hiện sự khác nhau có ý nghĩa thống kê (*P<0,05; **P<0,01 và ***P<0,001).

vi rút DTLCP. Hơn nữa, mức độ biểu hiện của các cytokine tiền viêm bao gồm IL-1α, IL-1β, IL-12p40 và IL-17A mRNA trong tế bào PAMs có mối tương quan với nhau và tỷ lệ thuận với mức độ biểu hiện của gia đình gen IFN-s và TNF-α trong tế bào PAMs gây nhiễm vi rút DTLCP chủng lai. Kết quả nghiên cứu này cho thấy, việc tăng mức độ biểu hiện của các cytokine tiền viêm và gia đình gen IFN-s và TNF-α trong tế bào PAMs có thể liên quan và gây ra mức độ miễn dịch qua trung gian tế bào và miễn dịch dịch thể của vật chủ để đáp ứng với nhiễm vi rút DTLCP chủng lai.

3.3. Sự biểu hiện của các cytokine kháng viêm mRNA trong tế bào PAMs nhiễm vi rút DTLCP chủng tái tổ hợp genotype I/II

IL-4 và IL-10 mRNA biểu hiện tăng tương đồng trong tế bào PAMs gây nhiễm vi rút DTLCP chủng lai ở nồng độ 0,01 MOI (hình 3). IL-4 và IL-10 mRNA tăng lần lượt gấp 11,56 và 8,56 lần sau 6 giờ gây nhiễm vi rút DTLCP chủng lai so với nhóm đối chứng (P<0,01, hình 3), tăng cao nhất sau 48 giờ gây nhiễm, lần lượt là 32,56 và 28,26 lần so với nhóm đối chứng không gây nhiễm (P<0,001) và giảm nhẹ sau 72 giờ gây nhiễm vi rút DTLCP chủng lai với nồng độ 0,01 MOI (hình 3). Tương tự, mức độ biểu hiện của IL-11 và IL-13 mRNA tăng sau 6 giờ gây nhiễm với vi rút DTLCP chủng lai, tăng cao nhất sau 24 giờ gây nhiễm lần lượt là 7,23 và 7,45 lần (P<0,001) so với nhóm đối chứng không gây nhiễm và giảm dần sau 72 giờ gây nhiễm vi rút DTLCP chủng lai với nồng độ 0,01 MOI so với nhóm đối chứng (hình 3).

Các cytokine kháng viêm bao gồm IL-4, IL-10, IL-11 và IL-13 mRNA là những cytokine chủ chốt được sản xuất bởi nhiều tế bào miễn dịch và có tác dụng điều hòa chức năng miễn dịch trong cơ thể vật chủ hoặc tế bào [12, 22]. Hơn nữa, các cytokine kháng viêm là những cytokine đa chức năng với nhiều tác dụng đa dạng trong điều hòa miễn dịch, tiền viêm và chống viêm [12, 20]. Ví dụ, IL-4 và IL-10 mRNA ức chế sự biểu hiện của các cytokine Th1, kháng nguyên MHC lớp II và các phân tử đồng kích thích (CSM) trên đại thực bào [12, 20]. IL-10 và IL-11 mRNA tăng cường sự sống sót, tăng sinh tế bào và sản xuất kháng thể ở tế bào B [20]. IL-4, IL-10, IL-11 và IL-13 mRNA có thể ức chế hoạt động của NF-κB signaling pathway và tham gia vào việc điều hòa JAK-STAT signaling pathway,



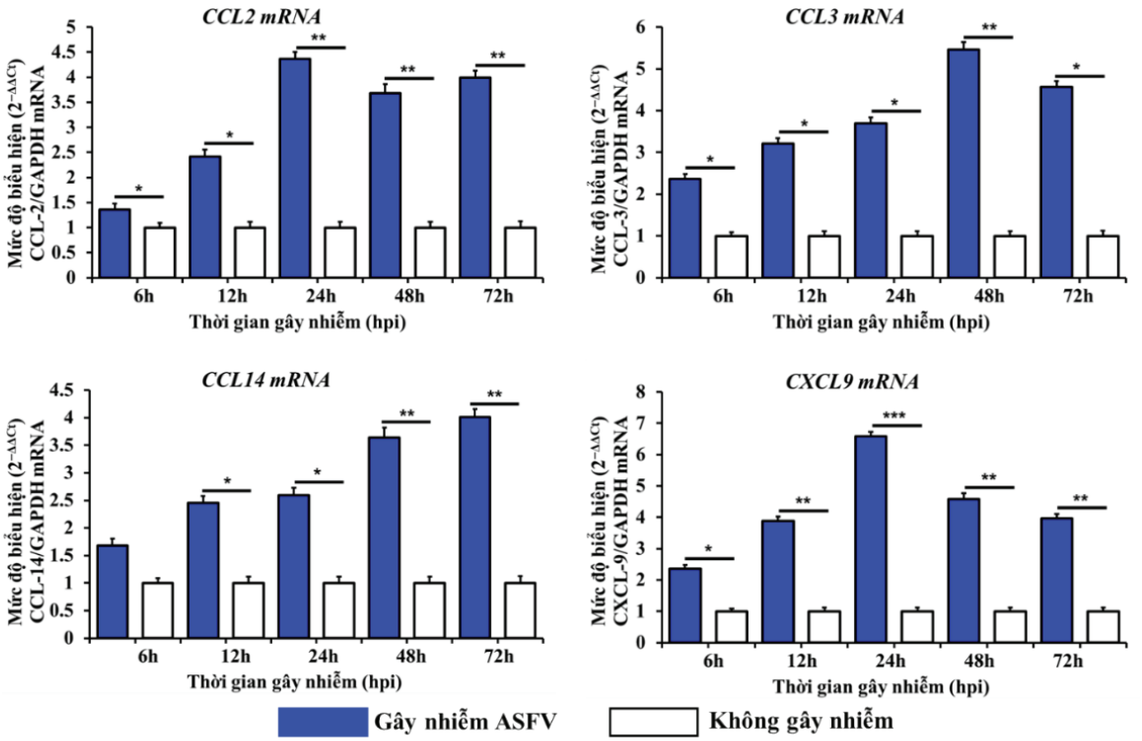
Hình 3. Sự biểu hiện gen của các cytokine kháng viêm trong tế bào PAMs nhiễm vi rút DTLCP chủng tái tổ hợp genotype I/II. Các ký tự * thể hiện sự khác nhau có ý nghĩa thống kê (*P<0,05; **P<0,01 và ***P<0,001).

đồng thời đóng vai trò quan trọng trong việc kiểm soát miễn dịch chống vi rút thông qua việc gây ra và điều hòa sớm miễn dịch bẩm sinh ở vật chủ [9, 20]. Kết quả nghiên cứu cho thấy, sự biểu hiện cao của các cytokine kháng viêm bao gồm IL-4, IL-10, IL-11 và IL-13 mRNA trong tế bào PAMs sau khi gây nhiễm vi rút DTLCP chủng lai ở nồng độ 0,01 MOI, sự tăng biểu hiện của các cytokine chống viêm này có thể nhằm kiểm soát sự biểu hiện của các cytokine tiền viêm và điều hòa sự cân bằng cytokine Th1 và Th2 trong quá trình nhiễm vi rút DTLCP ở tế bào PAMs.

3.4. Sự biểu hiện của các chemokine mRNA trong tế bào PAMs nhiễm vi rút DTLCP chủng tái tổ hợp genotype I/II

Chemokine đóng vai trò quan trọng trong miễn dịch chống lại vi rút DTLCP thông qua việc điều hòa di chuyển và hoạt hóa của các tế bào miễn dịch. Khi vi rút DTLCP xâm nhập, nhiều loại chemokine như CCL2, CCL3, CCL14 và CXCL9 mRNA được tăng cường biểu hiện, thu hút bạch cầu đơn nhân, đại thực bào, bạch cầu trung tính và tế bào T đến vị trí nhiễm [10, 23]. Nhờ đó, chúng hỗ trợ kiểm soát sự nhân lên của vi rút và loại bỏ tế bào nhiễm. Đồng thời, chemokine còn điều hòa cân bằng giữa đáp ứng viêm và bảo vệ mô, góp phần duy trì môi trường miễn dịch hiệu quả. Tuy nhiên, vi rút DTLCP có thể lợi dụng hoặc ức chế một số chemokine nhằm trì hoãn đáp ứng miễn dịch, giúp vi rút tồn tại và lây lan [10, 19, 23]. Vì vậy, chemokine vừa là yếu tố bảo vệ quan trọng của vật chủ kháng lại vi rút DTLCP và vừa là mục tiêu điều hòa miễn dịch mà vi rút DTLCP có thể khai thác để giúp vi rút tồn tại và nhân lên trong cơ thể vật chủ [10, 23].

Trong nghiên cứu này, sự biểu hiện tăng CCL2, CCL3, CCL14 và CXCL9 mRNA là khác nhau trên tế bào PAMs gây nhiễm vi rút DTLCP chủng lai ở nồng độ 0,01 MOI so với nhóm đối chứng không gây nhiễm (hình 4), ví dụ như CCL2 mRNA tăng nhẹ, khoảng 1,36 lần (P<0,05) sau 6 giờ gây nhiễm vi rút DTLCP, tăng cao nhất sau 24 giờ gây nhiễm (tăng 4,36 lần, P<0,01) và duy trì mức độ tăng trong khoảng từ 3,6 đến 3,9 lần sau 48 và 72 giờ (P<0,01) so với nhóm đối chứng (hình 4). Trong khi đó, CXCL9 mRNA có biểu hiện tăng cao nhất sau 24 giờ gây nhiễm (tăng 6,58 lần, P<0,001) và sau đó giảm dần sau 72 giờ gây nhiễm vi rút DTLCP chủng lai ở nồng độ 0,01



Hình 4. Sự biểu hiện gen của các chemokine trong tế bào PAMs nhiễm vi rút DTLCP chủng tái tổ hợp genotype I/II. Các ký tự * thể hiện sự khác nhau có ý nghĩa thống kê (*P<0,05; **P<0,01 và ***P<0,001).

MOI so với nhóm đối chứng. Mức độ biểu hiện của CCL3 và CCL14 mRNA tăng dần và biểu hiện cao nhất sau 48 và 72 giờ gây nhiễm so với nhóm đối chứng. Kết quả cho thấy, sự tăng biểu hiện của các chemokine trong tế bào PAMs nhiễm vi rút DTLCP chủng lai có sự khác nhau, với mỗi loại chemokine có chức năng khác nhau thì mức độ biểu hiện và thời gian biểu hiện khác nhau, từ đó cũng mở ra hướng nghiên cứu về vai trò quan trọng của chemokine trong đáp ứng miễn dịch chống lại sự xâm nhiễm của vi rút DTLCP trong vật chủ trong tương lai.

4. Kết luận

Biểu hiện mRNA của các cytokine và chemokine trong tế bào PAMs nhiễm vi rút DTLCP chủng lai (genotype I/II) ở liều gây nhiễm 0,01 MOI tăng rõ rệt theo thời gian, phản ánh sự kích thích mạnh mẽ đáp ứng miễn dịch của vi rút DTLCP chủng lai. Các interferon (IFN-γ, IFN-α, IFN-β mRNA) và TNF-α mRNA tăng đáng kể, đạt đỉnh ở 48 giờ sau nhiễm và duy trì đến 72 giờ, cho thấy vai trò quan trọng trong miễn dịch bẩm sinh và kiểm soát sự nhân lên của vi rút. Đồng thời, các cytokine tiền viêm (IL-1α, IL-1β, IL-12p40, IL-17A mRNA), cytokine kháng viêm (IL-4, IL-10, IL-11, IL-13 mRNA) và chemokine (CCL2, CCL3, CCL14, CXCL9 mRNA) đều tăng mạnh mẽ sau nhiễm vi rút DTLCP, đặc biệt trong giai đoạn 24-48 giờ sau nhiễm, cho thấy sự phối hợp chặt chẽ giữa đáp ứng miễn dịch bẩm sinh và thích ứng trên tế bào PAMs.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được tài trợ bởi Cơ quan Hệ thống Thực phẩm Bền vững Ireland, Bộ Nông nghiệp, Thực phẩm và Hàng hải Ireland trong Dự án mã số VIPFAST-NIVR-18012024 và Dự án hợp tác giữa Viện Thú y, Đại học Quốc gia Jeonbuk và Đại học Chung-Ang, Hàn Quốc. Các tác giả xin chân thành cảm ơn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1] World Organisation for Animal Health (2021), "Chapter 3.9.1. African swine fever (infection with African swine fever virus)", *Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals*, 18pp, https://www.woah.org/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/3.09.01_ASF.pdf, accessed 28 October 2025.

[2] I. Galindo, C. Alonso (2017), "African swine fever virus: A review", *Viruses*, **9(5)**, DOI: 10.3390/v9050103.

[3] L. Zsak, M.V. Borca, G. Risatti, et al. (2005), "Preclinical diagnosis of African swine fever in contact-exposed swine by a real-time PCR assay", *Journal of Clinical Microbiology*, **43(1)**, DOI: 10.1128/JCM.43.1.112-119.2005.

[4] J. van Heerden, K. Malan, B. Gadaga, et al. (2017), "Reemergence of African swine fever in Zimbabwe, 2015", *Emerging Infectious Diseases*, **23(5)**, DOI: 10.3201/eid2305.161195.

[5] C. Cubillos, S.G. Sebastian, N. Moreno, et al. (2013), "African swine fever virus serodiagnosis: A general review with a focus on the analyses of African serum samples", *Virus Res.*, **173(1)**, DOI: 10.1016/j.virusres.2012.10.021.

[6] J.H. Forth, M. Tignon, A.B. Cay, et al. (2019), "Comparative analysis of whole-genome sequence of african swine fever virus Belgium 2018/1", *Emerging Infectious Diseases*, **25(6)**, pp.1249-1252, DOI: 10.3201/eid2506.190286.

[7] X. Zhou, N. Li, Y. Luo, et al. (2018), "Emergence of African swine fever in China, 2018", *Transbound Emerg. Dis.*, **65(6)**, pp.1482-1484, DOI: 10.1111/tbed.12989.

[8] E. Mighell, M.P. Ward (2021), "African swine fever spread across Asia, 2018-2019", *Transboundary and Emerging Diseases*, **68(5)**, pp.2722-2732, DOI: 10.1111/tbed.14039.

[9] I.A. Ramshaw, A.J. Ramsay, G. Karupiah, et al. (1997), "Cytokines and immunity to viral infections", *Immunological Reviews*, **159**, DOI: 10.1111/j.1600-065x.1997.tb01011.x.

[10] G. Franzoni, M. Pedrera, P.J.S. Cordon (2023), "African swine fever virus infection and cytokine response *in vivo*: An update", *Viruses*, **15(1)**, DOI: 10.3390/v15010233.

[11] S. Gil, N. Sepulveda, E. Albina, et al. (2008), "The low-virulent African swine fever virus (ASFV/NH/P68) induces enhanced expression and production of relevant regulatory cytokines (IFN-α TNF-α and IL-12p40) on porcine macrophages in comparison to the highly virulent ASFV/L60", *Archives of Virology*, **153(10)**, pp.1845-1854, DOI: 10.1007/s00705-008-0196-5.

[12] Y. Zheng, S. Li, S.H. Li, et al. (2022), "Transcriptome profiling in swine macrophages infected with African swine fever virus at single-cell resolution", *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **119(19)**, DOI: 10.1073/pnas.2201288119.

[13] S. Oh, S. Sheet, V.N. Bui, et al. (2024), "Transcriptome profiles of organ tissues from pigs experimentally infected with African swine fever virus in early phase of infection", *Emerging Microbes & Infections*, **13(1)**, DOI: 10.1080/22221751.2024.2366406.

[14] A.D. Truong, S. Kang, H.V. Dang, et al. (2023), "Small RNA sequencing and profiling of serum-derived exosomes from African swine fever virus-infected pigs", *Journal of Animal Science*, **101**, DOI: 10.1093/jas/skac400.

[15] K.J. Livak, T.D. Schmittgen (2001), "Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) method", *Methods*, **25(4)**, pp.402-408, DOI: 10.1006/meth.2001.1262.

[16] M. Pedrera, A. Soler, A. Simon, et al. (2024), "Characterization of the protective cellular immune response in pigs immunized intradermally with the live attenuated African swine fever virus (ASFV) Lv17/WB/Rie1", *Vaccines*, **12(4)**, DOI: 10.3390/vaccines12040443.

[17] J.A. Jackman, A. Hakobyan, R. Grigoryan, et al. (2024), "Antiviral screening of natural, anti-inflammatory compound library against African swine fever virus", *Virol. J.*, **21(1)**, DOI: 10.1186/s12985-024-02374-2.

[18] C.L.V. Martins, A.C. Leitao (1994), "Porcine immune responses to African swine fever virus (ASFV) infection", *Veterinary Immunology and Immunopathology*, **43(1-3)**, pp.99-106, DOI: 10.1016/0165-2427(94)90125-2.

[19] G. Franzoni, S.D. Giudici, A. Oggiano (2018), "Infection, modulation and responses of antigen-presenting cells to African swine fever viruses", *Virus Research*, **258**, pp.73-80, DOI: 10.1016/j.virusres.2018.10.007.

[20] S. Wang, J. Zhang, Y. Zhang, et al. (2021), "Cytokine storm in domestic pigs induced by infection of virulent African swine fever virus", *Frontiers in Veterinary Science*, **7**, DOI: 10.3389/fvets.2020.601641.

[21] I.A. Smirnov, A.S. Lipatov, I. Okuno, et al. (1999), "A common antigenic epitope in influenza A virus (H1, H2, H5, H6) hemagglutinin", *Voprosy Virusologii*, **44(3)**, pp.111-115 (in Russian).

[22] P. Conti, D. Kempuraj, S. Frydas, et al. (2003), "IL-10 subfamily members: IL-19, IL-20, IL-22, IL-24 and IL-26", *Immunology Letters*, **88(3)**, pp.171-174, DOI: 10.1016/s0165-2478(03)00087-7.

[23] J.J. Zhu, P. Ramanathan, E.A. Bishop, et al. (2019), "Mechanisms of African swine fever virus pathogenesis and immune evasion inferred from gene expression changes in infected swine macrophages", *PLOS ONE*, **14(11)**, DOI: 10.1371/journal.pone.0223955.