

3. 高病原性鳥 H5N1 インフルエンザウイルスの流行 — 2004 版 —

八田 正人¹, 河岡 義裕²

¹ ウィスコンシン大学マジソン校・² 東京大学医科学研究所

2003年12月以来、高病原性鳥 H5N1 インフルエンザウイルスがアジア各国で流行し、2005年3月現在、カンボジア、ベトナムおよびタイで、合わせて74名もの感染が確認され、そのうち49名が亡くなった。我々は、この流行を引き起こしている高病原性鳥 H5N1 インフルエンザウイルスについて、マウス、カモおよびフェレットを用いて病原性を解析した。ヒトから分離されたウイルスはマウスに対して強毒で、致死的な全身感染を引き起こした。また、ヒト由来株の中にはフェレットに対しても強毒で、全身感染をひき起こすウイルスが存在した。一方、鳥由来株は、カモに対して強い病原性を示す株もあったがマウスやフェレットに対しては、弱毒であった。また、PB2 タンパク質の627番目のアミノ酸に Lys を持つヒト由来株は、Glu を持つヒト由来株よりもマウスおよびフェレットに対して強毒であった。このことから、PB2 タンパク質の627番目のアミノ酸が Lys であることは、哺乳動物で効率よく増殖するために重要な働きをしていることが示唆された。

はじめに

1997年、香港で、高病原性鳥 H5N1 インフルエンザウイルスが流行し、18人が感染し6人が亡くなった。この流行により、高病原性鳥 H5N1 インフルエンザウイルスは直接ヒトに感染し致死的な疾病を引き起こすことが明らかとなった⁵⁾。このことは、鳥からヒトへのインフルエンザウイルスの伝播には中間宿主が必要であるとするこれまでの概念を覆し、鳥がインフルエンザパンデミックを引き起こす直接的な源となりうることが示唆された。その後、高病原性鳥 H5N1 インフルエンザウイルスはほぼ毎年のように出現し、養鶏界に多大の被害を及ぼした。ヒトへの感染は、2003年に2例確認されたものの²¹⁾、1997年以降、報告はなかった。ところが、2003年12月以来、高病原性鳥 H5N1 インフルエンザウイルスがアジア各国（日本、韓国、中国、インドネシア、タイ、カンボジア、マレーシア、ベトナム

およびラオス）で流行し³⁴⁾、2005年3月現在、カンボジア、ベトナムおよびタイで、合わせて74名もの感染が確認され、そのうち49名が亡くなった³²⁾。致死率、60%以上である。また、1億羽以上もの家禽がこのウイルスにより死んだり、流行拡大を防ぐために殺処分された。この高病原性 H5N1 インフルエンザウイルスによる流行は現在も続いている。このウイルスは、未だヒトからヒトへ効率よく伝播するには至っていないが、パンデミックを引き起こす恐れがあるとして、世界保健機関（WHO）は注意を促している。ここでは、この高病原性鳥 H5N1 インフルエンザウイルスに焦点を当て、その現状とこれまでに我々が得た成績について報告する。

1. インフルエンザウイルス

インフルエンザウイルスは、オルソミクソウイルス科に属し、内部蛋白質の抗原性の違いから、A、B、およびC型に分けられる¹⁸⁾（図1）。A型インフルエンザウイルスは、ヒトをはじめ、ブタ、ミンク、ウマ、アザラシ、クジラ、鳥類では、カモ、白鳥などの水禽類、ニワトリ、七面鳥などの家禽類など、さまざまな動物に感染し、ヒトにおける世界的な大流行（パンデミック）の原因となる（図2）。A型インフルエンザウイルスは、ヒトやブタでは、発熱を伴う急性呼吸器症状を引き起こす一方、家禽（ニワトリ、七

連絡先

〒108-8639 東京都港区白金台4-6-1

TEL : 03-5449-5504

FAX : 03-5449-5408

E-mail : ¹mhatta@facstaff.wisc.edu ²kawaoka@ims.u-tokyo.ac.jp

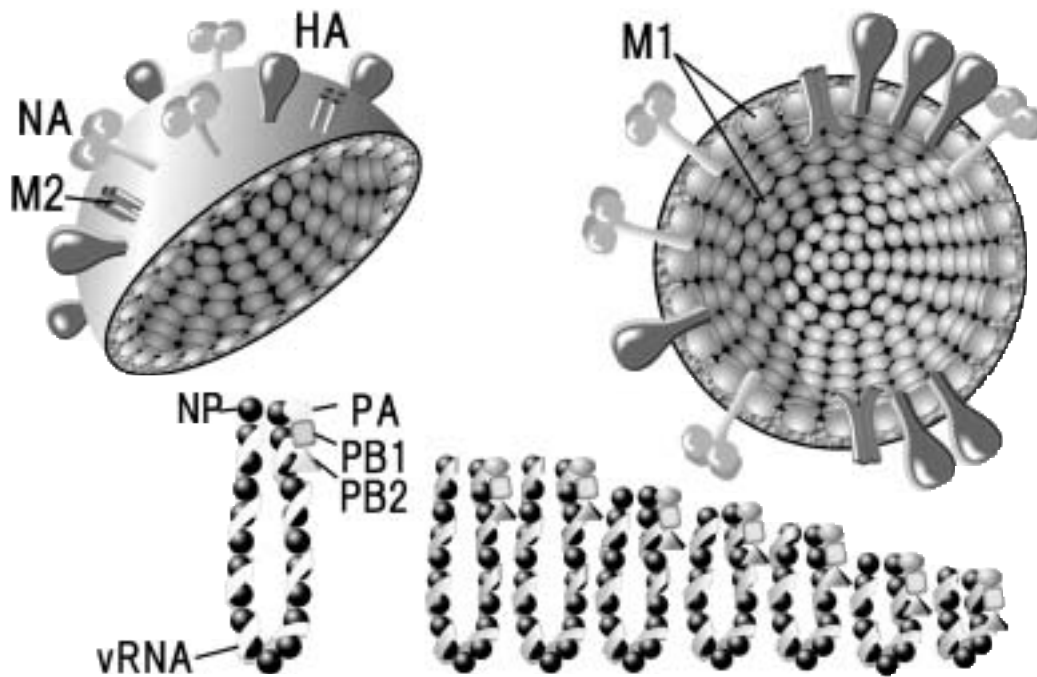


図1 A型インフルエンザウイルスの構造

A型インフルエンザウイルスは9つのタンパク質から構成されており、ヘマグルチニン (HA)、ノイラミニダーゼ (NA) と M2 タンパク質は、ウイルス表面に存在する。ウイルス粒子は M1 タンパク質で裏打ちされており、その内部には8本のウイルス遺伝子と、それと結合した核タンパク質および3つのポリメラーゼサブユニット PA, PB1 および PB2 が存在している。



図2 A型インフルエンザウイルスの宿主域

A型インフルエンザウイルスは、ヒトをはじめ、ブタ、ミンク、ウマ、アザラシ、クジラ、水禽類、家禽類など、さまざまな動物に感染する。カモなどの水禽類からは全ての抗原亜型のウイルスが分離されており、A型インフルエンザウイルスの自然宿主と考えられている。矢印は、A型インフルエンザウイルスの伝播経路を示す。

面鳥、ウズラなど) では致死的な出血熱を起こすウイルスも存在する。そのため、インフルエンザが経済社会に及ぼす影響は多大である。

A型インフルエンザウイルスは、表面糖蛋白質のヘマグルチニン (HA) の抗原性から16種類 (H1～H16) およびノイラミニダーゼ (NA) の抗原性から9種類 (N1～N9)

の亜型に分類される^{8,18)}。これまでに、カモなどの野生水禽類からは全ての抗原亜型のウイルスが分離されているが、ヒトおよび他の動物では限られた亜型のウイルスしか分離されていない。人類は、前世紀、3回のパンデミックを経験した (1918年 H1N1型スペインかぜ、1957年 H2N2型アジアかぜ、1968年 H3N2型香港かぜ)。H5, H7亜型に

属するウイルスの中には、家禽に対して致死性の疾病を引き起こすウイルスが存在する^{2, 15)}。現在、アジア諸国で猛威を振るっている高病原性鳥インフルエンザウイルスは、H5 亜型のウイルスである。

A 型インフルエンザウイルスは、様々な動物から分離されるが、同じウイルスが全ての動物に感染するわけではなく、それぞれの動物に感染するウイルスは決まっている。大部分の鳥のウイルスはそのままではヒトに感染することではなく、また同様にヒトのウイルスは鳥には感染しない^{1, 19, 29)}。その原因のひとつは、鳥とヒトのインフルエンザウイルスが宿主細胞上の異なるレセプターを認識することによる^{6, 7, 14, 23)}。そのため、鳥インフルエンザウイルスがヒトの間で効率よく伝播するためには、両方のウイルスのレセプターを持つ中間宿主（ブタ）の存在が必要であると考えられていた²⁴⁾。すなわち、この中間宿主に両方のウイルスが同時に感染し、遺伝子再集合が起こり、新型インフルエンザウイルスが産生されるというものである。しかし、1997 年の香港における流行から、高病原性鳥 H5N1 インフルエンザウイルスがヒトへ感染し、致死的な疾病を引き起こすのに、中間宿主は必要ではないことが明らかになった。また、このことは、ヒト自身が、新型インフルエンザウイルスを産生する場所となり得ることを示している。

2. 高病原性鳥 H5N1 インフルエンザウイルスの流行 — 2004 年 —

2003 年 12 月、韓国ソウル市近郊の農場で、突如、19,000 羽ものニワトリが死亡した。これが、高病原性鳥 H5N1 インフルエンザウイルスによるものであることが確認され、韓国では史上初の感染例となった³³⁾。2004 年 1 月には、ベトナム南部でこのウイルスによる大規模な流行が確認され、40,000 羽ものニワトリが死亡した。また、我が国でも、高病原性鳥 H5N1 ウイルスにより、山口県で約 6,000 羽のニワトリが死亡した。これは、我が国では 1925 年以来、実に 79 年ぶりの高病原性鳥インフルエンザの発生であった³³⁾。その後、我が国では、大分、兵庫および京都でも同ウイルスによる感染が確認され、ベトナムでは流行は北部へと拡大、また、タイ、カンボジア、ラオス、インドネシアおよび中国でも、次々と感染が確認され、多くの家禽が死亡した。4 月から 7 月にかけて、流行の勢いは一時衰えたかみえた。しかし、その後、中国、カンボジア、インドネシア、タイおよびベトナムで流行が再発し、同 8 月には、マレーシアでも発生が確認された。これまでに約 1 億羽もの家禽が死亡するかあるいは殺処分された。この流行により各国は深刻な経済的打撃を受けた。この流行の中、ベトナム、タイおよびカンボジアではこの高病原性鳥 H5N1 インフルエンザウイルスのヒトへの感染例が確認された^{30, 31, 33, 34)}。2004 年 1 月から 2005 年 4 月までに、合わせて 74 名もの感染が確認され、そのうち 49 名が亡くなっている³²⁾。非常

に高い致死率である。また、タイでは、飼い猫や動物園で飼育されていたトラが、高病原性鳥 H5N1 インフルエンザウイルスの感染により死亡した^{16, 17, 22)}。すなわち、高病原性鳥 H5N1 インフルエンザウイルスは、ヒトのみならず、ほかの哺乳動物へも感染し得ることが確認された。

3. ヒトにおける病態

ベトナムにおけるヒト感染例 10 名の病態が報告された²⁶⁾。患者は、平均年齢 13.7 歳と若く、このうち 8 名が発症後約 10 日で亡くなっている。主な症状は、高熱、呼吸困難、咳および下痢であった。すべての患者において、リンパ球減少症と胸部 X 線像の異常がみられた。タイにおけるヒト感染例 12 例では、7 例が 14 歳以下の子供であり、ベトナムの例と同様の症状を示した。この 12 名中 8 名が亡くなった⁴⁾。また、ベトナムおよびタイのいずれの例も、大部分の患者が、家禽と濃厚な接触をしていたことが知られている。また、ヒトからヒトへの伝播が疑われる例が報告されているが^{26, 27)}、未だ、ヒトからヒトへ効率よく感染するには至っていない。

4. ベトナムで分離されたウイルスの病原性

この流行を引き起こしている高病原性鳥 H5N1 インフルエンザウイルスは何故このような強い病原性を示すのか？その疑問を解くために、我々は、2003 年から 2004 年にベトナムで、カモ、ニワトリおよび死亡したヒトから分離されたウイルス（表 1）について、その病原性をさまざまな動物モデルを用いて解析した。

(1) マウスにおける病原性

1997 年以降にヒトあるいは鳥から分離された高病原性鳥 H5N1 インフルエンザウイルスのいくつかは、マウスに対して致死性である^{3, 9-12, 28)}。今回カモおよびニワトリから分離されたウイルスは、マウスに対して弱毒であり、 10^3 個ものウイルスを感染させてもマウスを殺さなかった。また、ウイルスは、主に呼吸器からのみ分離された。一方、ヒトから分離されたウイルスは、マウスに対して致死性であり、いずれのウイルスもわずか 20 pfu 以下でマウスを殺した。VN1194 および VN1203 ウイルスは、脳を含む全身の臓器

表 1 ベトナムで分離された H5N1 ウイルス

A/Vietnam/1194/04
A/Vietnam/1203/04 (VN1203)
A/Vietnam/1204/04 (VN1204)
A/duck/Vietnam/NCVD-5/03 (NCVD5)
A/duck/Vietnam/NCVD-18/03 (NCVD18)
A/duck/Vietnam/NCVD-25/03
A/chicken/Vietnam/NCVD-8/03
A/chicken/Vietnam/NCVD-15/03
A/chicken/Vietnam/NCVD-30/03

から分離されたが、VN1204 ウイルスは、主に呼吸器から分離された。

(2) カモにおける病原性

次に、ヒト分離株 VN1203 および VN1204、カモ分離株 NCVD5 および NCVD18 ウイルスについて、カモにおける病原性を解析した。カモなどの水禽類はインフルエンザウイルスの自然宿主で、すべての亜型のインフルエンザウイルスがカモから分離されている。また、感染したカモは無症状である²⁰⁾。ところが、2002年以降に分離された高病原性鳥 H5N1 インフルエンザウイルスの中には、カモなどの水禽類に致死的なウイルスが存在する²⁵⁾。そこで、約 10^6 個のウイルスを5週齢のカモに経口、経鼻および経クロアカ感染させた。いずれのウイルス株も、感染後3日目には、全身の臓器からウイルスが分離された。また、VN1204 および NCVD18 ウイルスは、感染後、それぞれ5日目および4日目に感染カモ3羽中1羽を殺した。これらのウイルスは、死んだカモの脳を含む全身の臓器から分離された。感染後6日目には、NCVD18 ウイルスは、全身の臓器からウイルスが分離されたが、VN1203 および NCVD5 ウイルスは、主に呼吸器からのみウイルスが分離された。

(3) フェレットにおける病原性

フェレットはヒトインフルエンザウイルス感染の動物モデルと考えられている。そこで、約 10^6 個のウイルスを7ヶ月齢のフェレットに経鼻感染させたところ、VN1203 ウイルスは3日目に3匹中1匹を殺したが、VN1204、NCVD5 および NCVD18 ウイルスはフェレットを殺さなかった。またいずれのウイルスも、感染後3日目では、主に呼吸器からしかウイルスは分離されなかった。感染後6日目では、VN1203 ウイルスを感染させたフェレットのうち1匹では、全身の臓器からウイルスが分離されたが、それ以外のウイルス株では、3日目と同様に主に呼吸器からしかウイルスは分離されなかった。

以上の成績は、ヒトから分離された H5N1 ウイルスは、鳥から分離されたウイルスよりも哺乳動物に対して強毒であることが示された。

5. PB2 の 627 番目のアミノ酸がベトナム分離株の病原性に及ぼす影響

1997年に香港でヒトから分離された高病原性鳥 H5N1 インフルエンザウイルスを用いた実験から、PB2 タンパク質の627番目のアミノ酸がマウスにおける病原性に大きな影響を与えることを、我々は以前明らかにした¹³⁾。PB2 タンパク質の627番目のアミノ酸が Lys である A/Hong Kong/483/97 (HK483) ウイルス (亡くなったヒトから分離) はマウスに対して強毒であり、ウイルスは脳を含む全身の臓器から分離された。一方、627番目のアミノ酸が Glu である A/Hong Kong/486/97 (HK486) ウイルス (回復したヒトから分離) はマウスに対して弱毒であり、ウイルスは

呼吸器からのみ分離された。それぞれのウイルスの PB2 タンパク質の627番目のアミノ酸を Lys あるいは Glu に変えると、HK483 ウイルスはマウスに対して弱毒になり、ウイルスは呼吸器からしか分離されなかった。一方、HK486 ウイルスは強毒になり、ウイルスは脳を含む全身の臓器から分離された¹³⁾ (図3)。このことから、PB2 タンパク質の627番目のアミノ酸が Lys であることは、高病原性鳥 H5N1 インフルエンザウイルスがマウスにおいて効率よく増殖するために重要であることが示唆された。今回、我々が用いたベトナム分離株では、ヒトから分離された VN1194 および VN1203 ウイルスは、PB2 タンパク質の627番目のアミノ酸が Lys であり、それ以外のウイルスは Glu であった。興味深いことに、ヒトから分離された VN1204 ウイルスは、PB2 タンパク質の627番目のアミノ酸が Glu であり、VN1194 および VN1203 ウイルスが、マウスで全身感染を起こしているのに対して VN1204 ウイルスでは呼吸器にウイルスの増殖が局限していた。また、VN1203 ウイルスはフェレットに対して強毒で全身感染を起こしていたが、VN1204 ウイルスはフェレットに対して弱毒で、ウイルスは主に呼吸器から分離された。一方、カモでは、VN1204 ウイルスは全身感染を起こしてカモを殺したが、VN1203 ウイルスはカモを殺さなかった。このことから、ベトナムで分離された高病原性鳥 H5N1 インフルエンザウイルスにおいても、PB2 タンパク質の627番目のアミノ酸が Lys であることは、哺乳動物で効率よく増殖するために重要な働きをしていると考えられる。

6. おわりに

2004年に再び姿を現した高病原性鳥 H5N1 インフルエンザウイルスは、今もなおアジア諸国で猛威を振っている。このウイルスは鳥類に対して高い致死率を持つのみならずヒトに対しても高い死亡率を示している。流行当初より、感染拡大防止のために精力的に市場や農場の家禽の殺処分が行われているが、未だ流行は終息するには至っていない。ベトナムでヒトから分離された高病原性鳥 H5N1 ウイルスは、マウスやフェレットといった哺乳動物に対して強毒であった。このことは、本ウイルスがもはや鳥だけではなく、哺乳類に対しても強い病原性を発揮する能力を獲得しつつあることを示している。未だヒトからヒトへ効率良く伝播はするには至っていないが、鳥からヒトへの感染例が増加しているため、いつウイルスがその能力を獲得し、パンデミックを引き起こすようになるか分からない。継続的な疫学調査とワクチン開発およびウイルスの分子生物学的研究は必要かつ急務である。また、哺乳動物におけるインフルエンザウイルスの病原性発現のメカニズムを明らかにすることは、今後の強毒ウイルスの発生予測および、インフルエンザワクチンや抗ウイルス剤の開発に有用である。そのためにも、インフルエンザウイルスの病原性に関与するウ

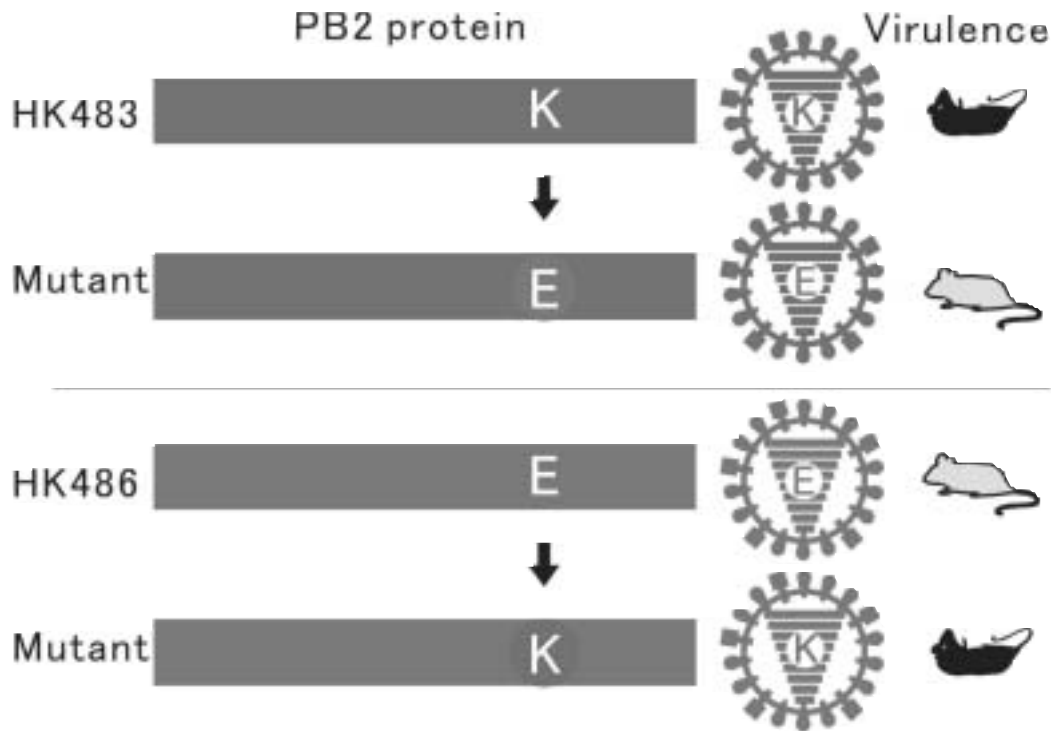


図3 PB2 タンパク質の 627 番目のアミノ酸がマウスの病原性に及ぼす影響

PB2 タンパク質の 627 番目のアミノ酸が Lys である A/Hong Kong/483/97 (HK483) ウイルスはマウスに対して強毒であり、627 番目のアミノ酸が Glu である A/Hong Kong/486/97 (HK486) ウイルス (回復したヒトから分離) はマウスに対して弱毒であった。それぞれのウイルスの PB2 タンパク質の 627 番目のアミノ酸を Lys あるいは Glu に変えると、HK483 ウイルスはマウスに対して弱毒になり、HK486 ウイルスは強毒になった。

ウイルスの遺伝子および蛋白質の機能のさらなる解明が必要である。

文 献

- 1) Beare AS, Webster RG. : Replication of avian influenza viruses in humans. *Arch Virol* 119: 37-42, 1991.
- 2) Bosch FX, Garten W, Klenk HD, Rott R. : Proteolytic cleavage of influenza virus hemagglutinins : primary structure of the connecting peptide between HA1 and HA2 determines proteolytic cleavability and pathogenicity of Avian influenza viruses. *Virology* 113: 725-735, 1981.
- 3) Chen H, Deng G, Li Z, Tian G, Li Y, Jiao P, Zhang L, Liu Z, Webster RG, Yu K. : The evolution of H5N1 influenza viruses in ducks in southern China. *Proc Natl Acad Sci U S A* 101: 10452-10457, 2004.
- 4) Chotpitayasunondh T, Ungchusak K, Hanshaoworakul W, Chunsuthiwat S, Sawanpanyalert P, Kijphati R, Lochindarat S, Srisan P, Suwan P, Osotthanakorn Y, Anantasetagoon T, Kanjanawasri S, Tanupattarachai S, Weerakul J, Chaiwirattana R, Maneerattanaporn M, Poolsavathitikoool R, Chokephaibulkit K, Apisarntharak A, Dowell SF. : Human disease from influenza A (H5N1), Thailand, 2004. *Emerg Infect Dis* 11: 201-209, 2005.
- 5) Claas EC, Osterhaus AD, van BR, De Jong JC, Rimmelzwaan GF, Senne DA, Krauss S, Shortridge KF, Webster RG. : Human influenza A H5N1 virus related to a highly pathogenic avian influenza virus. *Lancet* 351: 472-477, 1998.
- 6) Connor RJ, Kawaoka Y, Webster RG, Paulson JC. : Receptor specificity in human, avian, and equine H2 and H3 influenza virus isolates. *Virology* 205: 17-23, 1994.
- 7) Couceiro JN, Paulson JC, Baum LG. : Influenza virus strains selectively recognize sialyloligosaccharides on human respiratory epithelium; the role of the host cell in selection of hemagglutinin receptor specificity. *Virus Res* 29: 155-165, 1993.
- 8) Fouchier RA, Munster V, Wallensten A, Bestebroer TM, Herfst S, Smith D, Rimmelzwaan GF, Olsen B, Osterhaus AD. : Characterization of a novel influenza A virus hemagglutinin subtype (H16) obtained from black-headed gulls. *J Virol* 79: 2814-2822, 2005.
- 9) Gao P, Watanabe S, Ito T, Goto H, Wells K, McGregor M, Cooley AJ, Kawaoka Y. : Biological heterogeneity, including systemic replication in mice, of H5N1 influenza A virus isolates from humans in Hong Kong. *J Virol* 73: 3184-3189, 1999.
- 10) Guan Y, Peiris JS, Lipatov AS, Ellis TM, Dyrting KC,

- Krauss S, Zhang LJ, Webster RG, Shortridge KF. : Emergence of multiple genotypes of H5N1 avian influenza viruses in Hong Kong SAR. *Proc Natl Acad Sci U S A* 99: 8950-8955, 2002.
- 11) Guan Y, Poon LL, Cheung CY, Ellis TM, Lim W, Lipatov AS, Chan KH, Sturm-Ramirez KM, Cheung CL, Leung YH, Yuen KY, Webster RG, Peiris JS. : H5N1 influenza : a protean pandemic threat. *Proc Natl Acad Sci U S A* 101: 8156-8161, 2004.
 - 12) Gubareva LV, McCullers JA, Bethell RC, Webster RG. : Characterization of influenza A/HongKong/156/97 (H5N1) virus in a mouse model and protective effect of zanamivir on H5N1 infection in mice. *J Infect Dis* 178: 1592-1596, 1998.
 - 13) Hatta M, Gao P, Halfmann P, Kawaoka Y. : Molecular basis for high virulence of Hong Kong H5N1 influenza A viruses. *Science* 293: 1840-1842, 2001.
 - 14) Ito T, Suzuki Y, Mitnaul L, Vines A, Kida H, Kawaoka Y. : Receptor specificity of influenza A viruses correlates with the agglutination of erythrocytes from different animal species. *Virology* 227: 493-499, 1997.
 - 15) Kawaoka Y, Nestorowicz A, Alexander DJ, Webster RG. : Molecular analyses of the hemagglutinin genes of H5 influenza viruses : origin of a virulent turkey strain. *Virology* 158: 218-227, 1987.
 - 16) Keawcharoen J, Oraveerakul K, Kuiken T, Fouchier RA, Amonsin A, Payungporn S, Noppornpanth S, Wattanodorn S, Theambooniers A, Tantilertcharoen R, Pattanarangsarn R, Arya N, Ratanakorn P, Osterhaus DM, Poovorawan Y. : Avian influenza H5N1 in tigers and leopards. *Emerg Infect Dis* 10: 2189-2191, 2004.
 - 17) Kuiken T, Rimmelzwaan G, van RD, van AG, Baars M, Fouchier R, Osterhaus A. : Avian H5N1 influenza in cats. *Science* 306: 241, 2004.
 - 18) Lamb RA, Krug RM : *Orthomyxoviridae : The Viruses and Their Replication*. p. 1353. In Fields BN, Knipe DM, Howley PM (eds) : *Fields Virology*. Lippincott-Raven Publishers; Philadelphia, 1995.
 - 19) Murphy BR, Buckler-White AJ, London WT, Harper J, Tierney EL, Miller NT, Reck LJ, Chanock RM, Hinshaw VS. : Avian-human reassortant influenza A viruses derived by mating avian and human influenza A viruses. *J Infect Dis* 150: 841-850, 1984.
 - 20) Murphy BR, Webster RG : *Orthomyxoviruses*. p. 1397. In Fields BN, Knipe DM, Howley PM (eds) : *Fields Virology*. Lippincott-Raven Publishers; Philadelphia, 1995.
 - 21) Peiris JS, Yu WC, Leung CW, Cheung CY, Ng WF, Nicholls JM, Ng TK, Chan KH, Lai ST, Lim WL, Yuen KY, Guan Y. : Re-emergence of fatal human influenza A subtype H5N1 disease. *Lancet* 363: 617-619, 2004.
 - 22) Quirk M. : Zoo tigers succumb to avian influenza. *Lancet Infect Dis* 4: 716, 2004.
 - 23) Rogers GN, D'Souza BL. : Receptor binding properties of human and animal H1 influenza virus isolates. *Virology* 173: 317-322, 1989.
 - 24) Scholtissek C, Burger H, Kistner O, Shortridge KF. : The nucleoprotein as a possible major factor in determining host specificity of influenza H3N2 viruses. *Virology* 147: 287-294, 1985.
 - 25) Sturm-Ramirez KM, Ellis T, Bousfield B, Bissett L, Dyrting K, Rehg JE, Poon L, Guan Y, Peiris M, Webster RG. : Reemerging H5N1 influenza viruses in Hong Kong in 2002 are highly pathogenic to ducks. *J Virol* 78: 4892-4901, 2004.
 - 26) Tran TH, Nguyen TL, Nguyen TD, Luong TS, Pham PM, Nguyen VC, Pham TS, Vo CD, Le TQ, Ngo TT, Dao BK, Le PP, Nguyen TT, Hoang TL, Cao VT, Le TG, Nguyen DT, Le HN, Nguyen KT, Le HS, Le VT, Christiane D, Tran TT, Menno DJ, Schultsz C, Cheng P, Lim W, Horby P, Farrar J. : Avian influenza A (H5N1) in 10 patients in Vietnam. *N Engl J Med* 350: 1179-1188, 2004.
 - 27) Ungchusak K, Auewarakul P, Dowell SF, Kitphati R, Auwanit W, Puthavathana P, Uprasertkul M, Boonak K, Pittayawonganon C, Cox NJ, Zaki SR, Thawatsupha P, Chittaganpitch M, Khontong R, Simmerman JM, Chunsuttiwat S. : Probable person-to-person transmission of avian influenza A (H5N1). *N Engl J Med* 352: 333-340, 2005.
 - 28) Webster RG, Guan Y, Peiris M, Walker D, Krauss S, Zhou NN, Govorkova EA, Ellis TM, Dyrting KC, Sit T, Perez DR, Shortridge KF. : Characterization of H5N1 influenza viruses that continue to circulate in geese in southeastern China. *J Virol* 76: 118-126, 2002.
 - 29) Webster RG, Yakhno M, Hinshaw VS, Bean WJ, Murti KG. : Intestinal influenza : replication and characterization of influenza viruses in ducks. *Virology* 84: 268-278, 1978.
 - 30) World Health Organization. : Avian influenza, Viet Nam and Cambodia -update. *Wkly Epidemiol Rec* 80: 49, 2005.
 - 31) World Health Organization. : Avian influenza A (H5N1) . *Wkly Epidemiol Rec* 79: 41-52, 2004.
 - 32) World Health Organization. Cumulative Number of Confirmed Human Cases of Avian Influenza A/(H5N1) since 28 January 2004. 3-31-2005. Ref Type: Report
 - 33) World Health Organization. : Avian influenza A (H5N1) in humans and poultry, Vietnam. *Wkly Epidemiol Rec* 79: 13-14, 2004.
 - 34) World Health Organization. : Avian influenza A (H5N1). *Wkly Epidemiol Rec* 79: 65-70, 2004.

A clue to the molecular mechanism of virulence of highly pathogenic H5N1 avian influenza viruses isolated in 2004

Masato Hatta¹ and Yoshihiro Kawaoka²

4-6-1, Shirokanedai, Minato-ku, Tokyo 108-8639

¹University of Wisconsin-Madison

²Institute of Medical Science, University of Tokyo

E-mail : ¹mhatta@facstaff.wisc.edu ²kawaoka@ims.u-tokyo.ac.jp

Highly pathogenic avian H5N1 influenza A viruses have spread throughout Asia since 2003. These viruses are highly lethal to birds and humans. Of the 74 confirmed human cases, 49 were fatal (as of Mar 30, 2005), raising concerns of a possible pandemic by these viruses. Despite the well-established pathogenicity of these viruses, the molecular mechanism for expressing such high virulence remains elusive. Thus, we examined the pathogenicity of the H5N1 viruses isolated in Vietnam in 2003-2004 using animal models (mouse, duck, and ferret). Viruses from humans were generally more pathogenic in mice and ferrets than those from birds. Indeed, one human isolate was even lethal to ferrets. The human isolate possessing Lys at amino acid position 627 of PB2 was more virulent than that possessing Glu at this position, underscoring the importance of Lys at this position 627 of PB2 for efficient growth in mammals.

