

マルチスケールモデルを用いた C 型肝炎ウイルスの感染動態の記述

北川耕咲¹, 中岡慎治², 浅井雄介³, 岩見真吾^{2,4}

Kousaku Kitagawa¹, Shinji Nakaoka², Yusuke Asai³, Shingo Iwami⁴

九州大学理学部生物学科¹, JST さきがけ²,

北海道大学大学院医学研究科衛生学分野³, 九州大学理学研究院生物科学部門⁴

Department of Biology, Faculty of Science, Kyushu University¹,

Presto, Japan Science and Technology Agency²,

Department of Hygiene, Graduate school of Medicine, Hokkaido University³,

Department of Biology, Kyushu University⁴

1. はじめに

C型肝炎ウイルス(HCV)はフラビウイルス科へパシウイルス属に属する一本鎖プラスストランド RNA ウイルスである。現在, HCV キャリアは世界で 1 億 3000 万人にのぼると言われている。HCV に感染すると 2 週間以内に 55%~85%が慢性感染化する。慢性感染化した患者の 15%~30%が 20 年以内に肝硬変に進行し, さらにそのうち毎年 7%が肝癌を発症すると報告されており^{1,2}, HCV は公衆衛生上最も重要なウイルスのひとつである。現在, 感染経路を遮断する血液スクリーニング技術やウイルス複製に直接作用する DAA(Direct-Acting-Antivirals)併剤治療が高い効果を上げており, HCV は近い将来, 高率に完治すると考えられている。しかし, 未だに薬剤耐性ウイルスの出現による治療の失敗や高騰する薬価が公的保険制度を脅かすなどの課題が残されている。このような医学的な問題に取り組むためには, 薬剤治療下における HCV の感染ダイナミクスを定量的に理解する必要がある。得られた知見をもとに抗ウイルス治療戦略を最適化できれば, 薬剤耐性ウイルスの出現を抑え, 費用対効果を高めることが期待されるからである。

本稿では, 感染細胞の感染年齢 a を導入したマルチスケールモデルを考察する。感染細胞の感染年齢 a に依存する細胞内ウイルス RNA 量を $R(a)$ とすると, 以下の偏微分方程式(PDE)モデルを得る³ :

$$\begin{aligned} \frac{dT(t)}{dt} &= s - dT(t) - \beta T(t)V(t), \\ \left(\frac{\partial}{\partial t} + \frac{\partial}{\partial a}\right) i(t, a) &= -\delta i(t, a), \\ \frac{dR(a)}{da} &= \alpha - (\mu + \rho)R(a), \\ \frac{dV(t)}{dt} &= \rho \int_0^{\infty} R(a)i(t, a)da - cV(t). \end{aligned} \tag{1}$$

ここで、境界条件と初期条件は、

$$i(t, 0) = \beta T(t)V(t), \quad i(0, a) = i_0(a), \quad R(0) = \zeta,$$

であり、初期状態における感染細胞の年齢構造分布を $i_0(a)$ とする。感染細胞の年齢を考慮する場合、感染は年齢の境界 $a = 0$ における移入で表現する。ここで、一度の HCV 感染によって細胞内に侵入するウイルス RNA 量を ζ とする。感染細胞内でウイルス RNA は単位時間あたり α だけ複製され、速度 μ で分解、 ρ でウイルス粒子として細胞外に放出されるとする。なお、モデル(1)では感染年齢が感染細胞の死亡率やウイルス産生率に影響を与えないと仮定している。以上、マルチスケールモデルの導入により、感染細胞内のウイルス動態も考慮した細胞間の感染伝播が記述可能となる。

先行研究³では、抗ウイルス治療下で新規感染が起こらないと仮定することで、次のような解析解を導いた：

$$\begin{aligned} V(t) = V_0 \{ & e^{-c(t-t_0)} \\ & + \frac{\tilde{\rho}c}{N} \left[\frac{\tilde{\alpha}}{\tilde{\lambda}\delta(\delta-c)} (e^{-c(t-t_0)} - e^{-\delta(t-t_0)}) \right. \\ & \left. + \frac{1}{\tilde{\lambda} + \delta - c} \left(\frac{N}{\rho} - \frac{\tilde{\alpha}}{\tilde{\lambda}\delta} \right) (e^{-c(t-t_0)} - e^{-(\tilde{\lambda}+\delta)(t-t_0)}) \right] \}. \end{aligned} \quad (2)$$

ただし、

$$\tilde{\alpha} = (1 - \varepsilon_\alpha)\alpha, \tilde{\rho} = (1 - \varepsilon_s)\rho, \tilde{\lambda} = \tilde{\rho} + \kappa\mu, N = \frac{\rho(\alpha + \delta)}{\delta(\rho + \mu + \delta)},$$

である。本研究では、このような仮定を置くことなく PDE モデル(1)から ODE を導出した。次に、導出した ODE モデルを PDE モデル(1)および先行研究の仮定に基づいて導出された解(2)と比較することで、導出したモデルがより良く PDE モデル(1)を再現していることを確認した。また、導出した ODE モデルを用いて *in vivo* における抗ウイルス効果を調べた。

2. マルチスケールモデルから常微分方程式(ODE)の導出

新しい変数 $I(t)$ と $P(t)$ を次のように定義する：

$$\begin{aligned} I(t) &= \int_0^\infty i(t, a) da, \\ P(t) &= \int_0^\infty R(a) i(t, a) da. \end{aligned} \quad (3)$$

ここで、 $I(t)$ と $P(t)$ は、それぞれ“時刻 t における感染細胞の総数”および“時刻 t におけるすべての感染細胞内のウイルス RNA の総量”である。式(3)において両辺を t で微分すると、以下の常微分方程式を得る：

$$\begin{aligned}\frac{dI(t)}{dt} &= \beta T(t)V(t) - \delta I(t), \\ \frac{dP(t)}{dt} &= \zeta \beta T(t)V(t) + \alpha I(t) - (\mu + \rho + \delta)P(t).\end{aligned}\tag{4}$$

また、式(1)で $V(t)$ の式の積分項は $P(t)$ で書ける。したがって、以下の数学的に同値な常微分方程式系が得られる：

$$\begin{aligned}\frac{dT(t)}{dt} &= s - dT(t) - \beta T(t)V(t), \\ \frac{dI(t)}{dt} &= \beta T(t)V(t) - \delta I(t), \\ \frac{dV(t)}{dt} &= \rho P(t) - cV(t), \\ \frac{dP(t)}{dt} &= \zeta \beta T(t)V(t) + \alpha I(t) - (\mu + \rho + \delta)P(t).\end{aligned}\tag{5}$$

3. 治療開始後のウイルス量のシミュレーション

ODE モデル(5)と PDE モデル(1)および先行研究の解(2)を比較するために、治療開始後のウイルス量の時間変化をシミュレーションする。PDE のシミュレーションには Method of Lines (MoL)を用いた。MoL は従属変数を微小区間に分割することで離散化し、偏微分方程式を連立常微分方程式系で近似する手法である⁴。式(5),(1),(2)のシミュレーションを比較し、ウイルス治療下において ODE モデル(5)が式(2)に比べて PDE モデル(1)をより良く再現していることを以下のように確認した(図 1)。シミュレーションで使用したパラメータ値は表 1 に示す。

抗ウイルス薬によるウイルス RNA の複製及びウイルス産生の阻害効果(抗ウイルス効果)をそれぞれ ε_α と ε_ρ と定義する。式(2)(図 1 点線)は先行研究の仮定に基づいて導出された解の数値解であり、式(1)(図 1 実線)は、PDE モデルを MoL で近似した常微分方程式系の数値計算解である。また、式(5) (図 1 破線)は今回 PDE モデルから導出した数学的に同値な ODE の数値計算解である。図 1(a)は投与した薬剤の抗ウイルス効果が高い場合、図 1(b)は投与した薬剤の抗ウイルス効果が比較的低い場合のシミュレーションに対応しており、それぞれ値を図中に示した。なお、先行研究の経験的な仮定に基づいて導出された解(2)に見られる誤差は、“治療開始後に新しい感染が全く起らない”という仮定によって治療開始後の新規感染細胞によるウイルス産生を考慮していないことが原因である。この仮定は暗に抗ウイルス治療の効果が十分に高いことを意味しているため、抗ウイルス効果の小さい時に大きな誤差として現れることが確認できる。一方、導出した ODE モデル(5)は抗ウイルス効果に依ることなく PDE モデル(1)を高い精度で再現していることがわかる。

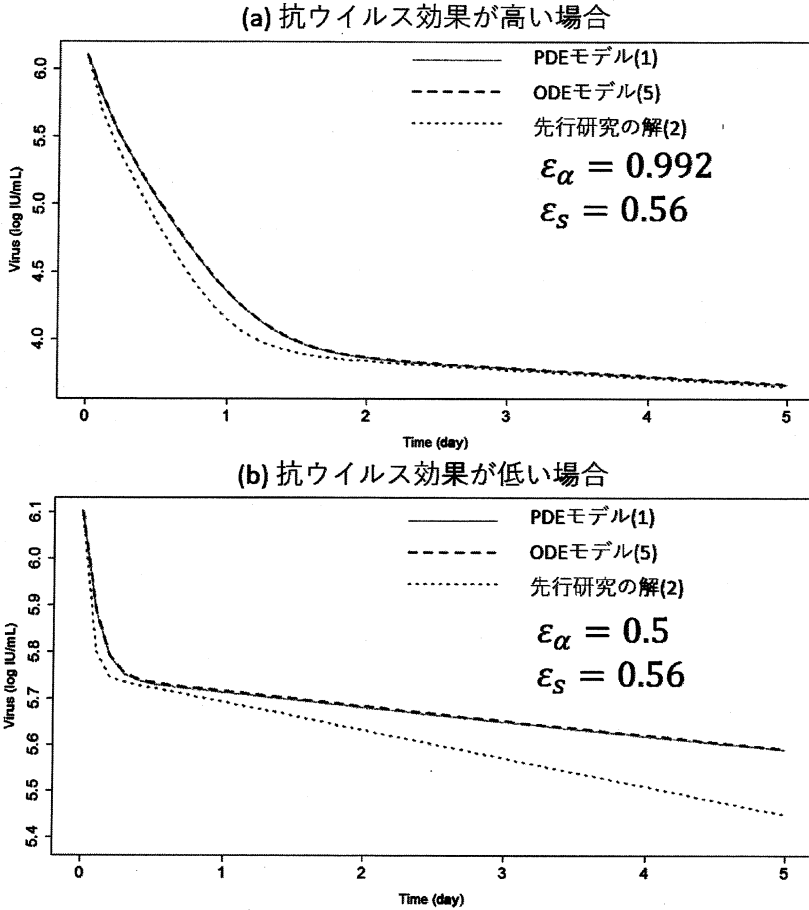


図1 異なる抗ウイルス治療条件下の PDE モデル(1)と数学的に同値な ODE モデル(5), および先行研究における近似式(2)の比較:(a)は抗ウイルス効果が高い場合, (b)は抗ウイルス効果が比較的低い場合に対応している. 実線は Method of Lines による PDE モデル(1), 破線は導出した ODE モデル(5), 点線は先行研究の仮定に基づいて導出された解(2)のシミュレーションである.

表1 数値計算に用いたパラメータ値

パラメータ	値	単位	文献
s	1.3×10^5	cells/mL	5
β	5×10^{-8}	mL day ⁻¹ virion ⁻¹	5
δ	0.14	day ⁻¹	5
α	40	day ⁻¹	5
d	0.01	day ⁻¹	5
μ	1	day ⁻¹	5
ρ	8.18	day ⁻¹	5
c	22.3	day ⁻¹	5
ζ	1	-	-

現在、臨床の場で使用される DAA 薬剤によって期待される抗ウイルス効果は十分高く、先行研究の仮定に基づいて導出された解(2)によりこれらの臨床データの解析が可能である。しかし、患者の体質や薬剤投与計画の非遵守などによって、期待される治療効果が十分に得られない可能性もある。本研究により、低い効果を示す HCV 治療のデータを解析する場合、先行研究の解(2)では PDE モデル(1)と大きな誤差が出る事が明らかとなった。一方で、PDE モデルを用いた数値計算は複雑で、ODE モデルの数値計算よりもコストが高いことが知られており、離散化したモデルにおいても、一般的に同じことが言える。本研究で導出した ODE モデル(5)を用いることで、コンピュータコストを抑えつつ、高い精度の治療効果の予測が可能となることが示された。

4. *in vivo*における抗ウイルス効果の定量

抗ウイルス治療下におけるウイルス量の減少は複数の相に分かれており、特に最も急に減少する第一相は抗ウイルス効果に対応していることが知られている。これはウイルスのターンオーバーが細胞のそれに比べて非常に大きいことに起因している。

以下、今回導出した ODE モデルを用いて *in vivo* における抗ウイルス効果を分析する。治療開始時には系がすでに正の平衡状態に達しているとする。また、治療開始直後の細胞数の変化は無視して、 $T(t) = T^*$, $I(t) = I^*$ とする。以上より、治療開始後のダイナミクスは次のように書ける：

$$\begin{aligned} \frac{d\tilde{V}(t)}{dt} &= \tilde{\rho}\tilde{P}(t) - c\tilde{V}(t), \\ \frac{d\tilde{P}(t)}{dt} &= \zeta\beta T^*\tilde{V}(t) + \tilde{\alpha}I^* - (\mu + \tilde{\rho} + \delta)\tilde{P}(t). \end{aligned} \quad (6)$$

ただし、初期値は、

$$\begin{aligned} \tilde{V}(0) &= V^*, \\ \tilde{P}(0) &= P^*, \end{aligned} \quad (7)$$

である。また $\tilde{\rho} = (1 - \varepsilon_\rho)\rho$, $\tilde{\alpha} = (1 - \varepsilon_\alpha)\alpha$ とする。治療を行った場合と行わなかった場合のウイルス数をそれぞれ $\tilde{V}(t)$, $V(t)$ として、薬剤によるウイルス量の非抑制率 $f_{u,v}$ を次のように定義する：

$$f_{u,v} = \lim_{t \rightarrow \infty} \frac{\tilde{V}(t)}{V(t)}. \quad (8)$$

また、*in vivo* における抗ウイルス効果 $\varepsilon_{in vivo}$ を次のように計算する：

$$\varepsilon_{in vivo} = 1 - f_{u,v}. \quad (9)$$

$\lim_{t \rightarrow \infty} (\tilde{V}(t), \tilde{P}(t)) = (\tilde{V}^*, \tilde{P}^*)$ であり、正定値に収束するので、

$$f_{u,v} = \lim_{t \rightarrow \infty} \frac{\tilde{V}(t)}{V(t)} = \frac{\tilde{V}^*}{V^*} \quad (10)$$

である。系が平衡状態に達していることから、連立方程式

$$\begin{aligned} \tilde{\rho}\tilde{P}^* - c\tilde{V}^* &= 0, \\ \zeta\beta T^*\tilde{V}^* + \tilde{\alpha}I^* - (\mu + \tilde{\rho} + \delta)\tilde{P}^* &= 0, \end{aligned} \quad (11)$$

を解くことにより、次の \tilde{V}^* を得る：

$$\tilde{V}^* = \frac{\tilde{\alpha}\tilde{\rho}I^*}{(c - \zeta\beta T^*)\tilde{\rho} + c(\mu + \delta)}. \quad (12)$$

また、 V^* は(12)式で $\tilde{\alpha}$ を α に、 $\tilde{\rho}$ を ρ に置き換えればよい。したがって、

$$f_{u,v} = (1 - \varepsilon_\alpha)(1 - \varepsilon_\rho) \frac{\frac{c(\mu + \delta)}{(c - \zeta\beta T^*)\rho} + 1}{\frac{c(\mu + \delta)}{(c - \zeta\beta T^*)\rho} + (1 - \varepsilon_\rho)}, \quad (13)$$

と計算される。特に、ウイルス RNA 複製のみを阻害する薬剤を考えるなら、式(13)で $\varepsilon_\rho = 0$ とすればよい：

$$f_{u,v} = 1 - \varepsilon_\alpha. \quad (14)$$

これより、ウイルス RNA 複製を阻害する薬剤の場合、*in vivo*における抗ウイルス効果は薬剤の抗ウイルス効果と一致することが言える。また、ウイルス産生のみを阻害する薬剤を考えるなら、 $\varepsilon_\alpha = 0$ とすればよい：

$$f_{u,v} = (1 - \varepsilon_\rho) \frac{\frac{c(\mu + \delta)}{(c - \zeta\beta T^*)\rho} + 1}{\frac{c(\mu + \delta)}{(c - \zeta\beta T^*)\rho} + (1 - \varepsilon_\rho)}. \quad (15)$$

ウイルス産生を阻害する薬剤については、*in vivo*における抗ウイルス効果は薬剤の抗ウイルス効果と一致しないことが分かる。つまり、抗ウイルス効果がウイルス抑制率、すなわち $1 - f_{u,v}$ によって定量された場合は、実際の抗ウイルス効果に比べて過小評価している可能性がある（図2）。

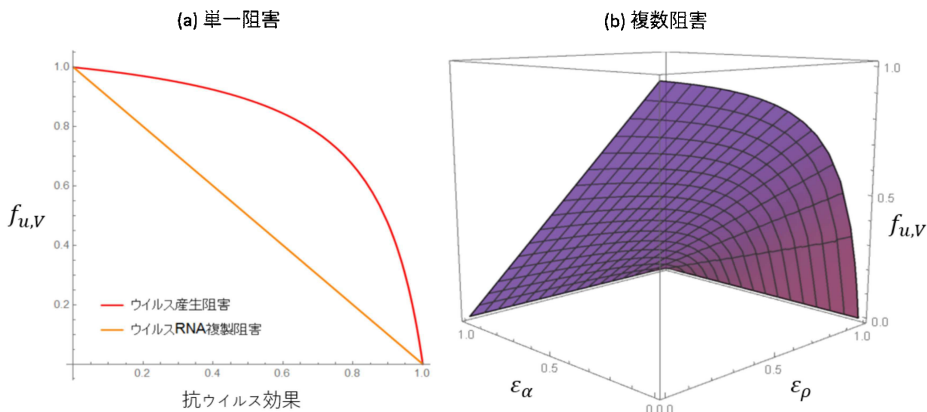


図2 抗ウイルス効果とウイルス抑制率：(a)は単一の阻害効果と考えた場合(式(14),(15)に対応)、

(b)は複数の阻害効果を考慮した場合(式(13)に対応)の抗ウイルス効果とウイルス抑制率の関係を示す.

以上の解析から, ウイルス複製の過程において, 感染細胞内のウイルス RNA 複製を阻害する薬剤と, ウイルス粒子の形成・細胞外への放出を阻害する薬剤とでは, 薬剤の抗ウイルス効果と期待される治療効果の関係が異なることが分かった.

参考文献

1. World Health Organization. "Hepatitis C". <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs164/en/> (2017年3月11日)
2. 国立国際医療研究センター. "C型肝炎 | 肝炎情報センター". http://www.kanen.ncgm.go.jp/cont/010/c_gata.html (2017年3月11日)
3. Guedj J, Dahari H, Rong L, et al. Modeling shows that the NS5A inhibitor daclatasvir has two modes of action and yields a shorter estimate of the hepatitis C virus half-life. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2013;110(10):3991-3996.
4. Schiesser WE, Griffiths GW. *A compendium of partial differential equation models: method of lines analysis with Matlab*. Cambridge University Press; 2009.
5. Rong L, Guedj J, Dahari H, et al. Analysis of hepatitis C virus decline during treatment with the protease inhibitor danoprevir using a multiscale model. *PLoS Comput Biol*. 2013;9(3):e1002959.