

HIV-1 重複感染におけるウイルス感染率低下の定量的解析

土肥 篤佳¹, 伊藤 悠介², Fabrizio Mammano^{3,4,5}, 岩見 真吾⁶

九州大学理学部数理生物学研究室¹

九州大学大学院システム生命科学府数理生物学研究室²

INSERM, U941, 75010 Paris, France. Professor³

Université Paris Diderot, Sorbonne Paris Cité, IUH, 75010 Paris, France⁴

Institut Universitaire d'Hématologie, Hôpital Saint-Louis⁵

九州大学大学院理学研究院生物科学部門数理生物学研究室⁶

Mayuka Dohi¹, Yusuke Ito², Fabrizio Mammano^{3,4,5} and Shingo Iwami⁶

Department of Biology, Faculty of Science, Kyushu University¹

Department of Life System Science, Kyushu University²

INSERM, U941, 75010 Paris, France. Professor³

Université Paris Diderot, Sorbonne Paris Cité, IUH, 75010 Paris, France⁴

Institut Universitaire d'Hématologie, Hôpital Saint-Louis⁵

Department of Biology, Faculty of Sciences, Kyushu University⁶

1. はじめに

HIV-1 は現在も世界的に分布しており、遺伝的に多様なウイルスである[1]。これはゲノム中で生じる遺伝的組換えに起因する[2]。こうした HIV-1 の遺伝的多様性を形成する 1 つのメカニズムとして、特に「重複感染」が注目されている。重複感染とは、細胞に複数のウイルスが時間間隔をおいて感染する現象である。遺伝的に異なる複数のウイルスによる重複感染が生じることで、HIV-1 の変異体がより効率的に出現する。つまり重複感染現象は、HIV-1 感染において遺伝的組換えを通じて遺伝的な多様化を助長しているのである[3,4]。

ウイルス増殖にとって有利な重複感染は、近年、複数のウイルスの感染間隔が大きくなるにつれて生じにくくなることが明らかになった[4]。先行研究において、重複感染が生じにくくなるタイミングと要因については明らかになっているが、具体的な感染率低下の定量化は明らかにされていない[4,5]。本稿では数理モデルを用いて、感染率低下の定量化を報告する。重複感染の起こりやすさを評価するためにオッズ比を指標として用いる。まず、実験データと比較するために数理モデルを構築する。同時感

染のモデルを参考に時間差を考慮して重複感染の頻度を計算する。また実験データも同様に頻度の計算を行う。最後に実験値と理論値の比較を行う。

2. 材料と方法

2.1. HIV-1 重複感染実験の概要

HIV-1 重複感染実験を紹介する。まず、本実験では感染状況を可視化するために2種類の蛍光タンパク質(HSA, GFP)とフローサイトメトリー(FACS)を用いて、HIV-1 重複感染実験を行った[図 1 A]。ここで、FACS は、細胞の特性に応じて1つ1つの細胞を分画できる実験器具であり、0種類(未感染細胞)、1種類(赤もしくは緑のウイルス)、2種類のウイルスに感染した細胞(重複感染細胞)をそれぞれ区別することができる[図 1 B]。

各区画に対応する細胞の割合を以下のように定義する;(区画 A)=(赤ウイルスに感染した細胞の割合)、(区画 B)=(重複感染した細胞の割合)、(区画 C)=(未感染細胞の割合)、(区画 D)=(緑ウイルスに感染した細胞の割合)。

培養細胞に時間差(τ)を設けることで重複感染を再現した。実験を可視化するために FACS を用いた。グラフでは蛍光強度の分布を表している[図 1 B]。FACS 上の各区画に対応する細胞の割合の実験データを取得した。

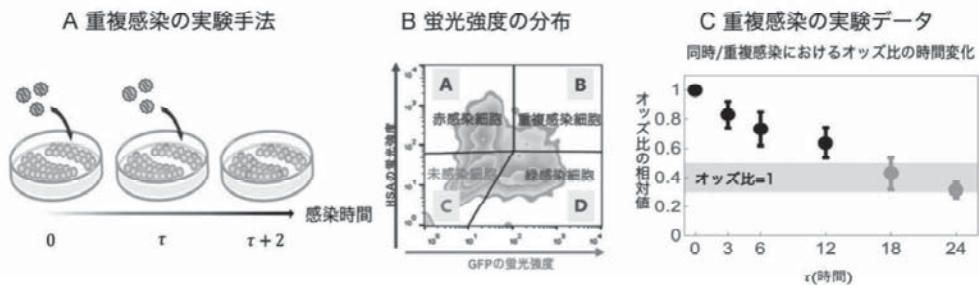


図1. 重複感染実験の概要図と取得した実験データ：(A)重複感染の再現実験の概略図
(B)フローサイトメトリーを用いて細胞の蛍光強度の分布を可視化
(C)オッズ比の相対値を表したグラフ

2.2. オッズ比：重複感染の頻度を相対的に評価する

上記の感染実験で細胞の頻度の測定が可能である。しかしながら、実験に使用する細胞株やウイルス株によって、取得される各区画の細胞頻度が異なる可能性がある。そこで、HIV-1 の重複感染を相対的に評価するために、オッズ比を用いる。本研究では、より詳細に感染率低下を定量化するためにオッズ比の相対値を理論値と実験値の比較で用いた[図 1 C]。まず、オッズ比とは感染が起こった確率 p と起こらなかった確率 $1 - p$ の比で、 $p/(1 - p)$ に定義される。

本研究では赤ウイルスを接種 τ 時間後に緑ウイルスを接種する場合を考慮する。赤ウイルス感染細胞が緑ウイルスに感染して重複感染するオッズが分子に、未感染ウイルスが緑ウイルスに感染するオッズを分母にとる。重複感染のオッズ比は[図 1 B]から以下のように計算される：

$$\text{オッズ比} = \frac{(\text{区画B}) * (\text{区画C})}{(\text{区画A}) * (\text{区画D})} \quad (1)$$

重複感染が起りやすいとはつまり分子が大きくなるので、オッズ比が1より大きい場合を重複感染が起りやすい、小さい場合を重複感染が起りにくいと考えられる。つまりオッズ比が1ということを基準に重複感染の起りやすさを評価できる。

興味深いことに、先行研究では感染時間の間隔が開くにつれてオッズ比が小さくなること、つまり重複感染が生じにくくなることが示唆された[4]。[図 1 C]におけるプロットの色の違いはオッズ比が小さくなる際のメカニズムの違いを示している。本研究では上記の理論値を用いてオッズ比が下がることを示すことで、重複感染が生じにくくなることを確認する。そして、理論値と実験値の一致を示す。

3. 結果 : HIV-1 重複実験データとの比較

3.1. HIV-1 重複感染における数理モデル

理論値はそれぞれの区画の細胞頻度を計算することでオッズ比を導出した。また、理論値においては赤ウイルスを先に入れた場合と緑ウイルスを先に入れた場合、その平均を7パターン計算した。計算する際に時間差(τ)を考慮して計算した：

未感染細胞

$$\frac{dT_i}{dt} = \begin{cases} -\beta s_i(V_R + 0)T_i & (0 < t < \tau) \\ -\beta s_i(V_R + V_G)T_i & (\tau < t < \tau + 2), \end{cases}$$

赤ウイルスに感染した細胞

$$\frac{dI_i^{R1}}{dt} = \begin{cases} \beta s_i V_R T_i - \beta s_i V_R I_i^{R1} & (0 < t < \tau) \\ \beta s_i V_R T_i - \beta s_i V_R I_i^{R1} - \beta s_i V_G I_i^{R1} & (\tau < t < \tau + 2), \end{cases}$$

$$\frac{dI_i^{R2}}{dt} = \begin{cases} \beta s_i V_R I_i^{R1} & (0 < t < \tau) \\ \beta s_i V_R I_i^{R1} - \beta s_i V_G I_i^{R2} & (\tau < t < \tau + 2), \end{cases}$$

緑ウイルスに感染した細胞

$$\frac{dI_i^{G1}}{dt} = \begin{cases} 0 & (0 < t < \tau) \\ \beta s_i V_G T_i - \beta s_i V_R I_i^{G1} - \beta s_i V_G I_i^{G1} & (\tau < t < \tau + 2), \end{cases} \quad (2)$$

$$\frac{dI_i^{G2}}{dt} = \begin{cases} 0 & (0 < t < \tau) \\ \beta s_i V_G I_i^{G1} - \beta s_i V_R I_i^{G2} & (\tau < t < \tau + 2), \end{cases}$$

重複感染細胞

$$\begin{aligned} \frac{dI_i^{R_1G_1}}{dt} &= \begin{cases} 0 & (0 < t < \tau) \\ \beta S_i V_R I_i^{G_1} + \beta S_i V_G I_i^{R_1} - \beta S_i V_R I_i^{R_1G_1} - \beta S_i V_G I_i^{R_1G_1} & (\tau < t < \tau + 2), \end{cases} \\ \frac{dI_i^{R_2G_1}}{dt} &= \begin{cases} 0 & (0 < t < \tau) \\ \beta S_i V_R I_i^{R_2} + \beta S_i V_R I_i^{R_1G_1} - \beta S_i V_G I_i^{R_2G_1} & (\tau < t < \tau + 2), \end{cases} \\ \frac{dI_i^{R_1G_2}}{dt} &= \begin{cases} 0 & (0 < t < \tau) \\ \beta S_i V_R I_i^{G_2} + \beta S_i V_G I_i^{R_1G_1} - \beta S_i V_R I_i^{R_1G_2} & (\tau < t < \tau + 2), \end{cases} \\ \frac{dI_i^{R_2G_2}}{dt} &= \begin{cases} 0 & (0 < t < \tau) \\ \beta S_i V_R I_i^{R_1G_2} + \beta S_i V_G I_i^{R_2G_1} & (\tau < t < \tau + 2). \end{cases} \end{aligned}$$

実験では赤ウイルスを先に入れていたため、同様に赤ウイルスを先に入れた場合を考えて計算した。

3.2. フローサイトメトリー上の各区画の細胞の割合の理論値

フローサイトメトリー上の各区画に対応する細胞の割合の理論値を計算する。HIV-1 同時感染を記述する確率モデル[6]を参考に時間間隔(τ)を考慮して計算を行う：

未感染細胞(区画 C)

$$\sum_{i=1}^{i=2} T_i(t^*),$$

赤ウイルス感染細胞(区画 A)

$$\sum_{i=1}^{i=2} \sum_{j=1}^{j=2} I_i^{R_j}(t^*), \quad (3)$$

緑ウイルス感染細胞(区画 D)

$$\sum_{i=1}^{i=2} \sum_{j=1}^{j=2} I_i^{G_j}(t^*),$$

重複感染細胞(区画 B)

$$\sum_{i=1}^{i=2} \sum_{j=1}^{j=2} \sum_{k=1}^{k=2} I_i^{R_jG_k}(t^*).$$

実験終了時の数値計算を行うため、 $t^* = \tau + 2$ で計算を行った。式(1)に計算結果を代入してオッズ比の計算を行った。そして、上記の式をそれぞれ実験値は誤差範囲も示すためにエラーバーを含めてプロットした[図 2]。

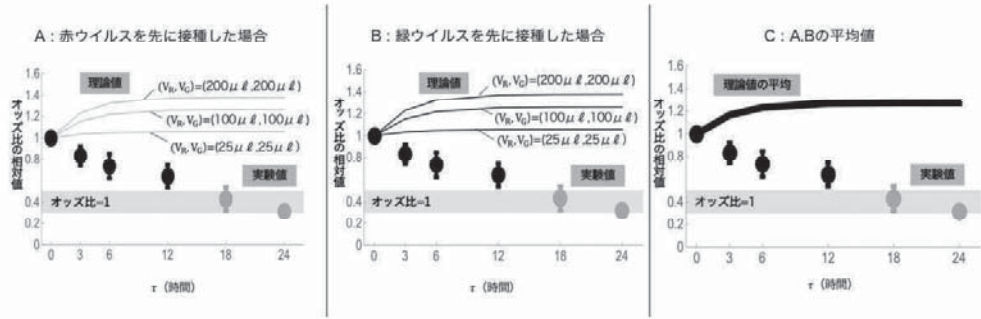


図2. 理論値と実験値のオッズ比相対量の比較：理論値は式(1,2,3)を用いて相対オッズ比を計算した。(A)赤ウイルスを先に接種した場合、(B)緑ウイルスを先に接種した場合、(C)(A,B)計6本の理論値の平均値を表す。なお実験値は黒色とグレーの点である。色の違いは感染率低下のメカニズムが異なることを意味する。

赤ウイルスを先に接種した場合[図 2 A]、緑ウイルスを先に接種した場合[図 2 B]、その平均[図 2 C]を示している。線の高さの違いはウイルス量の違いを示している。上からそれぞれ $200 \mu\ell$ 、 $100 \mu\ell$ 、 $25 \mu\ell$ ずつそれぞれのウイルスを接種した場合を示している。実験値のプロットの色に違いはオッズ比の低下の原因のメカニズムが異なることを示している。3つのグラフからわかる通り、理論値と実験値とは明らかに異なる結果になった[図 2]。実験データを説明するためには、感染率の低下を考慮する必要があることが示唆された。

4. 考察

本研究では重複感染を記述する数理モデルを開発した。今回開発したモデルは先行研究[6]を元に感染時間 τ を考慮した点において拡張していると言える。またオッズ比を用いて理論値と実験値を比較することで、理論値が実験結果を説明することができなかった。これより、感染率の低下を組み込んだ数理モデルを開発することが必要であると示唆された。これは1種類のウイルス感染が成立後、ウイルス感染低下率が低下しているためである。そのために、今後は、年齢構造など考慮するなど感染率低下の効果を含み数理モデルを構築する。さらに実験データから感染の低下率を推定していく。

5. 参考文献

- [1] Francine E. McCutchan et al. Global Epidemiology of HIV, IAVI Report, 2003
- [2] Etienne Simon - Lorie and Edward C. Holmes et al. Why do RNA viruses recombine, Nature Reviewd Biology, 2011

- [3] Smith. D. M. et al. HIV Superinfection, *Journal of Investigative Dermatology*, 2005
- [4] Remion A. et al. Kinetics of the establishment of HIV-1 viral interference and comprehensive analysis of the contribution of viral genes. *Virology*, 2016
- [5] Azaria Remion. et al. Co-infection, super-infection and viral interference in HIV, *Retrovirology*, 2013
- [6] Ito. Y et al, Dynamics of HIV-1 coinfection in different susceptible target cell populations during cell-free infection. *J. Theor Biol.* 2018

6. 謝辞

本研究の共同研究者である Azaria Remion 氏 (INSERM, France)、Alexandra Tauzin 氏 (INSERM, France)、江島啓介氏 (インディアナ大学、東京大学) に深くお礼申し上げます。