

HIV-侵入における補助受容体 CCR5 の機能解析

柿添 友輔¹, 岩見 真吾²

Yusuke Kakizoe¹, Shingo Iwami²

九州大学システム生命科学府¹, 九州大学理学大学院理学研究院²

Systems Life Sciences, Graduate School of Kyushu University¹,

Department of Biology, Kyushu University²

1.はじめに

ヒト免疫不全ウイルス 1 型(HIV-1)は、主に CD4T 細胞と呼ばれる免疫細胞に感染し、10 年ほどの潜伏期間を経て、最終的に後天性免疫不全症候群(AIDS)を発症させる。感染者に対する、現在の最も有効な治療手段は、抗ウイルス薬を同時に複数投与する、多剤併用療法(combination antiretroviral therapy: cART)と呼ばれる治療である。この治療では、感染者の血中ウイルス量を検出限界値以下まで抑える事ができるが、治療時の重篤な副作用や耐性ウイルスの出現等により、抗 HIV 薬の変更を迫られる困難がある。このため HIV 治療では、多種の治療薬を準備する事が重要になってくる。特に、cART では異なる標的の抗 HIV 薬を組み合わせる必要があり、異なる部類毎に多数の“代替治療薬”を準備しなければならない。現在日本で使用されている抗 HIV 薬に関して、ウイルス侵入阻害薬として承認されている薬は“maraviroc”ただ 1 つである。maraviroc は、1 日に 2 度の服用を必要とし、他の抗ウイルス薬と比較して投与計画の遵守が困難である。また、マクロファージ等の CCR5 指向性ウイルスに対しては効果的であるが、T 細胞等の CXCR4 指向性ウイルスには効果的でない事が明らかになっている。以上の様に、より効果的な新規の侵入阻害薬の開発が希求されている。

HIV-1 粒子の標的細胞への侵入は以下の分子機構で行われる事が分かっている。はじめに、標的細胞表面上の CD4 受容体が、ウイルス粒子表面上の糖タンパク Env と相互作用する。Env は gp120 及び gp41 で構成される三量体で、CD4 と結合することにより侵入を促進している。この結合により、Env に形態学的な変異を引き起こし、gp120 と補助受容体(CCR5/CXCR4)との相互作用が促進される。そして、gp41 が細胞膜とウイルスの融合を促進し、最終的にウイルスコアが細胞内に侵入するという過程を経る。新規ウイルス侵入阻害薬の開発のためには、この様な侵入過程の解明に加えて、各々の侵入過程を定量的

に明らかにする必要がある。現在まで、ウイルス侵入過程を定量的に解析した研究は、十分ではないものの複数報告されている[1,2]。しかしながら、これらの研究はウイルス粒子のみに着目した研究であり、標的細胞、そしてウイルスとの相互作用に着目した研究は行われていない。本研究では、HIV-1 粒子の標的細胞への侵入過程を、ウイルス粒子及び標的細胞の相互作用を考慮した数理モデルを記述し、標的細胞へのウイルス侵入確率を予測する数理モデルを構築した。また、本数理モデルとウイルス感染実験データを用いる事でウイルス侵入過程を定量的に解析した。

2. ウイルス侵入過程を記述する数理モデルの構築

本研究では、ウイルス侵入阻害薬が結合している CCR5 を、変異型 CCR5 と考えて議論する。まず、変異型 CCR5 は HIV-1 粒子の標的細胞への侵入に全く関与しないと仮定する。ここで、ある gp120 三量体と相互作用する、CCR5 クラスターが機能的である確率 α_m は次式で表される：

$$\alpha_m = \sum_{i=m}^N \binom{N}{m} (1-f)^m f^{N-m}. \quad (1)$$

式(1)の f, N, m はそれぞれ、標的細胞上 CCR5 変異型の頻度、クラスターを構成する CCR5 の数、CCR5 クラスターが機能的であるために必要な野生型の最小値を示している。式(1)はクラスターが N 個中 m 個以上の CCR5 が野生型であれば、そのクラスターが機能的である事を意味する。例えば、 $(m, N) = (2, 3)$ の場合、即ち機能的なクラスターであるために3個中2個の CCR5 が野生型であることより、CCR5 が機能的である確率は、次のようになる：

$$\alpha_2 = \binom{3}{2} (1-f)^2 f^1 + \binom{3}{3} (1-f)^3. \quad (2)$$

式(1)では、ある CCR5 クラスターに関して機能的かどうかに着目したが、標的細胞上には複数の CCR5 クラスターが存在している。そこで、標的細胞上に存在する全ての CCR5 クラスターに関して考える。また、HIV-1 粒子表面上の gp120 三量体と機能的な CCR5 クラスターが T 個以上相互作用する事で侵入が成立すると仮定する。 s 個の gp120 三量体が存在すると仮定した場合、HIV-1 粒子の侵入確率(相対感染力)は次の様になる：

$$\sum_{g=T}^s \binom{s}{g} \alpha_m^g (1 - \alpha_m)^{s-g}. \quad (3)$$

式(3)の g は、機能的である CCR5 のクラスター数を表している。例えば、 $(N, m, T, s) = (3, 2, 4, 5)$ の場合、

$$\binom{5}{4} \alpha_2^4 (1 - \alpha_2)^1 + \binom{5}{5} \alpha_2^5. \quad (4)$$

である。さらに、Zhu らの研究により、ウイルス粒子上では gp120 数が分布している事が定量的に明らかにされている[3]。そこで、[3]で推定された gp120 数の分布頻度を考慮すると、重み付けされた HIV-1 粒子の侵入確率は以下のようになる：

$$\frac{\sum_{s=T}^{s=s_{\max}} (\eta_s \sum_{g=T}^s \binom{s}{g} \alpha_m^g (1 - \alpha_m)^{s-g})}{\sum_{l=T}^{l=s_{\max}} \eta_l}. \quad (5)$$

また、HIV-1 粒子の侵入確率は、標的細胞上の CD4T 数に比例する事が示唆されている。即ち、CD4 数に比例して HIV-1 の侵入確率が変化する事より、侵入確率は以下の式で表される：

$$\frac{\tau_j \sum_{s=T}^{s=s_{\max}} (\eta_s \sum_{g=T}^s \binom{s}{g} \alpha_m^g (1 - \alpha_m)^{s-g})}{\sum_{l=T}^{l=s_{\max}} \eta_l}. \quad (6)$$

以上の様にして、HIV-1 のウイルス侵入過程を記述し、ウイルス感染力を予測する数理モデルを構築した。以下では、式(6)を用いたウイルス感染実験データの解析に関して説明する。

3. ウイルス感染実験データの解析

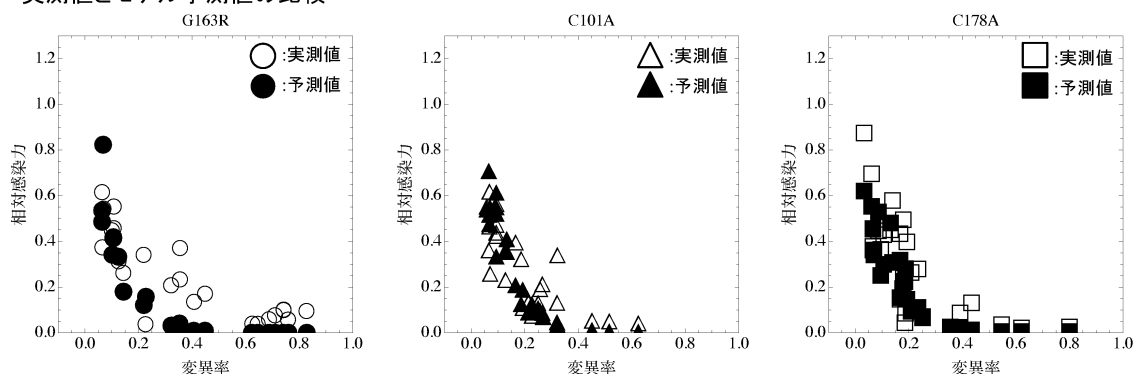
本章では、数理モデルを用いたウイルス感染実験データの解析について説明する。実験は、CCR5 を規定する遺伝子領域上の G163R、C101A、C178A 上にそれぞれ変異を持つウイルスに野生型の HIV-1 を感染させ、ウイルス侵入確率（相対感染力）を測定した。実験後、測定された相対感染力を式(6)でフィッティングする事で、HIV-1 侵入に関する各々のパラメータを推定した。フィッティングには以下に示す目的関数を定め、最小二乗法を用いて行った。

$$SSR(m, N, T, s_{\max}) = \sum_{i=0}^n (I(i) - I^*(i))^2. \quad (7)$$

$I(t)$, $I^*(t)$ は、それぞれ相対感染力の測定値、式(6)から予測される相対感染力を表している。探索範囲は m, N に関しては1～9までの整数、 T, s に関しては1～20までの整数で探索した。推定の結果、 $(m, N, T, s_{\max}) = (1, 1, 8, 8)$ と推定された。これは、HIV-1 が標的細胞に侵入するためには粒子表面上の8個の gp120 と標

的細胞上の 8 個の CCR5 が相互作用する必要がある事を示唆している。図 1 では相対感染力の測定値と予測値及び両者の箱ひげ図を示している。

実測値とモデル予測値の比較



実測値とモデル予測値の箱ひげ図

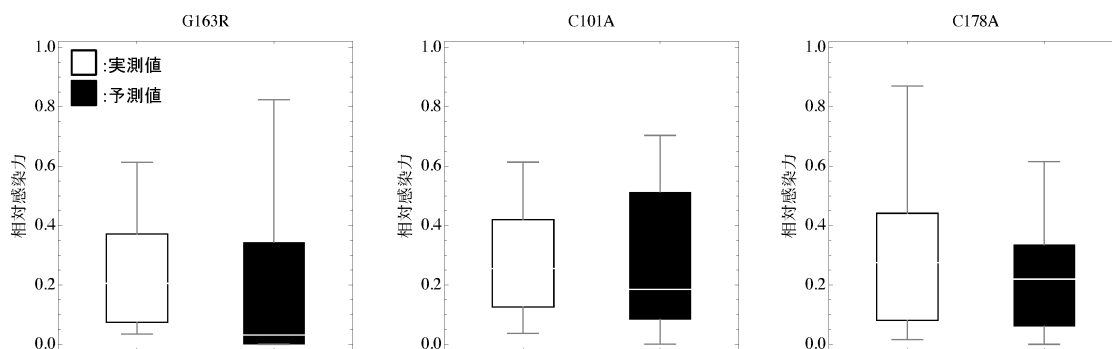


図 1. 相対感染力の予測値・実測値および各々の箱ひげ図

上段には、ウイルス感染実験より測定した相対感染力の測定値および式 (6) より計算された予測値を示している。また、下段には実測値及び予測値それぞれの箱ひげ図を示している。図より、式 (6) はどの変異型 CCR5 においても精度良く予測できている事が分かる。

4. まとめと今後の展望

本研究では、数理モデルとウイルス感染実験データを用いる事で、HIV-1 の標的細胞への侵入に要する CCR5 に関して定量的に解析した。解析の結果、CCR5 上は HIV-1 侵入のために 8 個必要であり、またウイルス粒子上の 8 個の gp120 三量体が必要である事が示唆された。さらに、構築した数理モデルを CCR5 変異率の関数、即ち侵入阻害薬濃度の関数と考える事で、標的細胞上の CCR5 を何%阻害すれば、HIV-1 の感染力がどの程度減少するかを推定した (図 2)。

効果的な侵入阻害薬濃度の計算

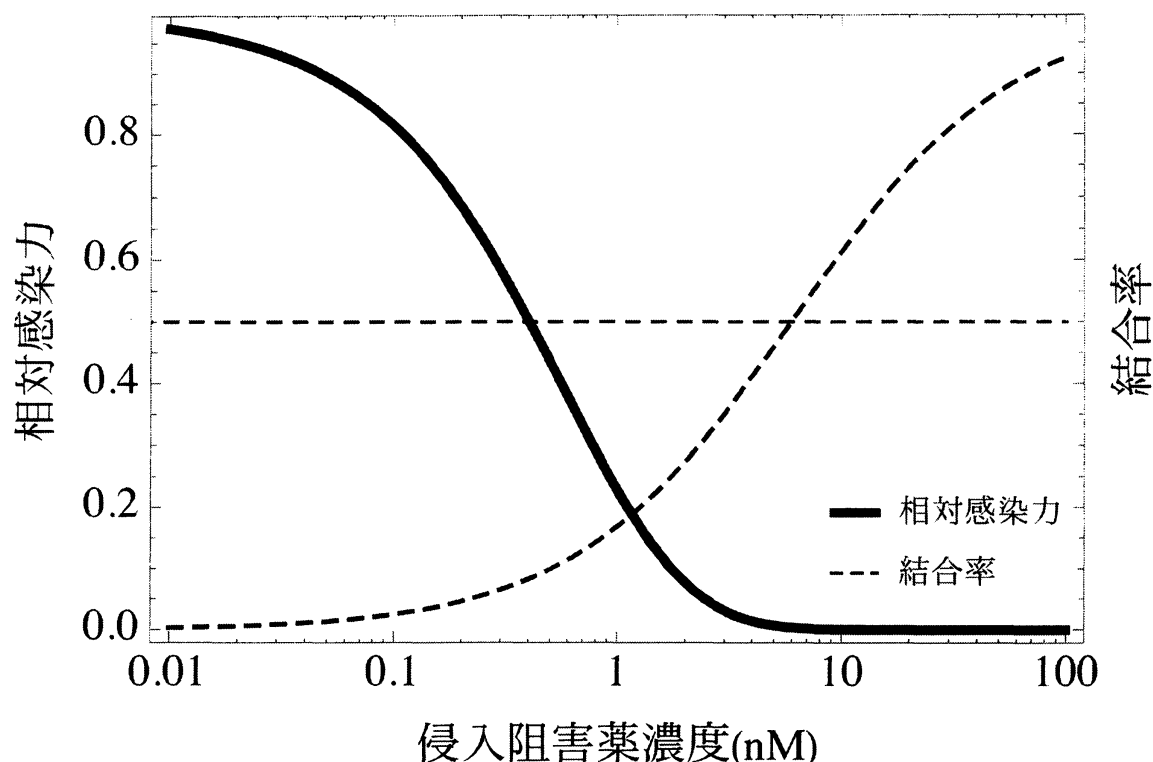


図 2. 効果的な侵入阻害薬濃度の推定

式 (6) を侵入阻害薬濃度の関数と見る事で、効果的に相対感染力を減少させる濃度を予測する事ができる。横軸は侵入阻害薬濃度を表しており、縦軸はそれぞれ相対感染力（実線）、侵入阻害薬と CCR5 の結合率（破線）を表している。図より侵入阻害薬を 1nM 投与すれば、相対感染力を 50%未満に抑えられる事が分かる。

以上の様に、数理モデルとウイルス感染実験データを用いる事で、抗ウイルス薬開発に関する定量的な知見を与える事ができる。今後の課題としては、生物学的な不確実性を考慮した推定の必要性が挙げられる。本推定では、HIV-1 の侵入には平均して 8 個の CCR5 が必要と推定されたが、生物学的には、HIV-1 侵入に要する CCR5 数は分布している可能性がある。この様な不確実性を考慮するため、今後の研究ではベイズ推定等を用いたパラメータ推定により、さらに詳細な定量的解析を遂行していく。

5. 参考文献

- [1] Magnus C, Rusert P, Bonhoeffer S, Trkola A, Regoes RR (2009) Estimating the stoichiometry of human immunodeficiency virus entry.

Journal of Virology 83: 1523–1531.

[2] Magnus C, Regoes RR (2010) Estimating the Stoichiometry of HIV Neutralization. PLoS Comput Biol 6(3): e1000713. doi:10.1371/journal.pcbi.1000713

[3] Zhu P, Liu J, Bess J Jr, Chertova E, Lifson JD, et al. (2006) Distribution and three-dimensional structure of AIDS virus envelope spikes. Nature 441: 847–52.