

突然変異原作用下における HIV1 擬種集団の自壊ダイナミクスの解析

Self-Destruction Dynamics of HIV-1 Quasi-population under Mutagenic Activities

原田耕治

豊橋技術科学大学大学院情報・知能工学系

Kouji Harada

Department of Computer Science and Engineering,
Toyohashi University of Technology, 1-1 Hibarigaoka, Tempaku, Toyohashi, Aichi, 441-8580, JAPAN
harada@cs.tut.ac.jp

The present study aims to establish theoretical bases for an alternative AIDS treatment for ART based on the use of multiple anti-HIV drugs. It is well known that HIV-1 is frequently-mutated. The alternative AIDS treatment is by inducing excess mutations to HIV-1 RNA(+) genome, to drive HIV-1 quasi-population to self-destruction. Namely it uses the HIV-1's remarkable character as an underhanded way. This study proposes a novel HIV-1 mathematical model considered viral kinetic processes such as mutation, replication, infection and mutagenic activities to control HIV-1 mutation rate. The model also considers four HIV-1 phenotypes: fast or slow in replication rate and viable or defective in infectious ability. Numerical simulations of the model show that enhancement of HIV-1 mutation rate causes HIV-1 quasi-population to an error catastrophe. Furthermore, analyses of local asymptotic stability of the self-destruction state reveal that the alternative AIDS treatment has effectiveness under certain specific viral conditions.

1 研究背景

現在のエイズ治療は、3 種以上の抗 HIV 薬を組み合わせた多剤併用療法 (cART) が中心である。この治療法は、薬物耐性を抑制する点で有効である一方、いくつかの問題を抱えている。例えば、既に抗 HIV 薬に耐性を持つ患者に対しては、交叉耐性の問題もあり、効果的なウイルス抑制を期待できない点。また、抗 HIV 薬に副作用を呈する患者では、長期の服用が難しい点が挙げられる。このように cART で治療が困難な患者に対しては、cART 以外のいくつかの代替療法を用意しておくことが望ましい。この研究では、ウイルス抑制を目的とする cART と異なる考えに立った、エイズ代替療法の理論的基礎の確立を目指す。

エイズの原因ウイルスである HIV は、「易変異性」[1] であり、その変異率は、Mansky と Temin によって 3.0×10^{-5} 変異/塩基/複製サイクルと測定された [2]。この高変異率は、主に HIV 逆転写酵素の基質選択忠実度が極端に低いことによる。本研究が検討する代替療法では、HIV-1 の易変異性を逆手に取り、変異原により更なる変異を誘導することで HIV-1 擬種集団を自壊に導くことを考える。なお、変異原とはゲノムに変異を誘導する物質のことをいう。一般に変異原として利用されるのは、デオキシヌクレオチド類似物またはリボヌクレオチド類似物である。

ここで検討する代替療法は、抗 HIV 薬による治療法にはないいくつかのメリットをもつ [3]。一つは、変異原に対する耐性株が出現しにくいと考えられる点である。二つ目は、抗 HIV 薬 (NRTI) に対する耐性株に対して有効な点である。一方、デメリットとしては、変異原がデオキシヌクレオチド類似物の場合、宿主細胞の DNA 合成の際に DNA ゲノムに取り込まれ、変異を引き起こすことが考えられる。しかしながらその心配はないことが確認されている。なぜなら、デオキシリボヌクレオチド類似物が仮に宿主の DNA に取り込まれたとしても、DNA 修復機構がただちにそれを除去するからである [3]。

この代替療法の実現可能性を示唆する in vitro の研究として、Loeb らの実験 [4] がある。彼らは、変異原としてデオキシシチジン類似物 C* を使用し、この変異原存在下で、HIV-1 を CEM 細胞に感染させる継代実験において、9 から 24 継代の間に HIV-1 が感染能力を失い自壊に至ることを示した。そして、自壊した HIV-1 の RNA(+) には G → A 変異が多数確認された。これは、逆転写酵素が HIV-1 の RNA(+) を鋳型として cDNA(-) を合成する際に、C より C* を好んで取り込むこと、そして C* は G でなく A (変異) とペアを組みやすいことによる。

一方、理論研究では、Eigen が提案したエラー閾値理論が先駆的である [5]。この理論では、互いに変異し合う自己複製子集団を用意し、変異率がある閾値を超えると、集団から適応度の最も高い野生型複製子が消失

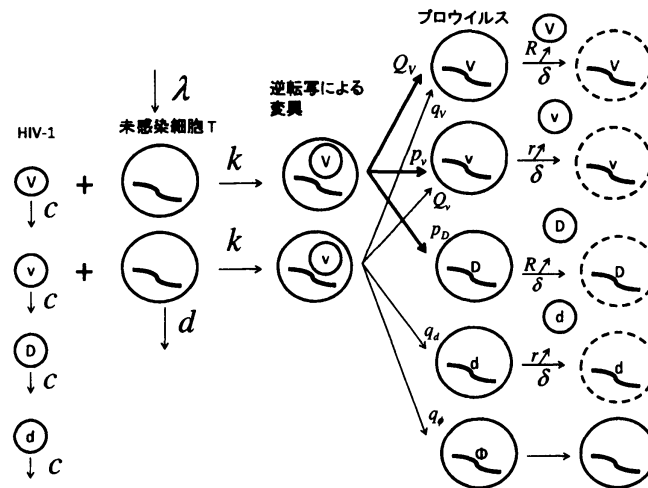


図 1: HIV-1 感染複製過程

し、適応度の低い変異体が集団を形成することを証明した。これを Eigen は「擬種集団の自壊」と呼んでいる。この理論は、単純であるが故の高い応用性をもつ。しかしながら Manrubia らは、エラー閾値理論をウイルス感染ダイナミクスの研究に適用する際の問題点として、遺伝子型の冗長度、致死変異、感染複製プロセスなどのウイルス学的知見が考慮されていない点を挙げている [6]。

このような研究背景のもと、本論では、HIV-1 の感染複製プロセスを考慮した HIV-1 感染数理モデルを提案し、変異原による突然変異率操作による HIV-1 擬種集団の自壊ダイナミクスと、自壊に至る力学的条件を明らかにする。

2 HIV-1 感染数理モデル

2.1 表現型

HIV-1 の形質として感染能力の有無とウイルス産生率の高低を考慮する。感染能力がありウイルス産生率の高い(低い)HIV-1 を $V(v)$ とし、感染能力が欠如しているがウイルス産生率の高い(低い)HIV-1 を $D(d)$ と表す。つまり HIV-1 の表現型は、 V, v, D, d の4つであり、 V が野生型となる。なお、HIV-1 が感染能力を失う要因の一つとして、例えば CD4+ 標的細胞への吸着に必須な gp120 分子の変異が考えられる。

2.2 感染複製過程

図 1 は、HIV-1 が宿主細胞に感染後、変異、複製される過程を示している。未感染状態にあるフリーな HIV-1 は、その表現型によらず一定の割合 c で除去されるとする。一方、まだ HIV-1 が感染していない未感染細胞 (T) は、一定の割合 λ で骨髄から供給され、一定の割合 d で死んでいくとする。

$V(v)$ のフリーなウイルス粒子は、感染率 k で未感染細胞 T に吸着し、侵入する。細胞内に侵入したウイルスは、自身の RNA(+) を放出し、そしてその逆転写酵素は、ウイルス DNA(+) をウイルス DNA へと変換する。しかしながら、この変換は逆転写酵素の転写エラー率が高いために、正確には行われない。このことを考慮し、ウイルス V の RNA(+) は、変異率 p_v, p_D で v または D のウイルス DNA に変換され、一方、ウイルス v の RNA(+) は、変異率 q_v, q_d で V または d のウイルス DNA に変換されるとする。変換されたウイルス DNA は、宿主細胞の DNA に組み込まれプロウイルスとなる (図 1 右から 2 列目)。また、ウイルス v

の RNA(+) は、変異率 q_ϕ でプロウイルス化の条件を満足しないウイルス DNA ϕ となるとする (その原因として、インテグラーゼ分子の機能部位における変異が考えられる)。一方、フリーなウイルス D, d は、感染能力を持たないため、今述べた感染と変異の過程を考慮する必要はない。

$V(D)$ のプロウイルスを抱えた感染細胞は、寿命 $1/\delta$ を迎えるまでの間に R 個のウイルス粒子を放出するとし、また $v(d)$ のプロウイルスを抱えた感染細胞は、 R より少ない r 個のウイルスを放出するとする。

以上をふまえて、HIV-1 の感染複製過程を記述するロールモデル [7] を参照し、数理モデル化した。未感染細胞数を P_T で表すと、その時間変化は次の方程式で記述できる。

$$\frac{dP_T}{dt} = \lambda - dP_T - k(P_v + P_V)P_T + q_\phi k P_v P_T \quad (1)$$

一方、 V, v, D, d のプロウイルスが組み込まれた感染細胞数をそれぞれ、 P_V, P_v, P_D, P_d で表すと、それらの時間変化は次の 4 つの方程式で記述できる。

$$\frac{dP_{TV}}{dt} = \{1 - (p_v + p_D)\}kP_V P_T + q_V k P_v P_T - \delta P_{TV} \quad (2)$$

$$\frac{dP_{Tv}}{dt} = p_v k P_V P_T + \{1 - (q_V + q_d + q_\phi)\}kP_v P_T - \delta P_{Tv} \quad (3)$$

$$\frac{dP_{TD}}{dt} = p_D k P_V P_T - \delta P_{TD} \quad (4)$$

$$\frac{dP_{Td}}{dt} = q_d k P_v P_T - \delta P_{Td} \quad (5)$$

また、 V, v, D, d のフリーウイルス量をそれぞれ、 P_V, P_v, P_D, P_d と表すと、その時間変化は、それぞれ以下の方程式で記述できる。

$$\frac{dP_V}{dt} = R\delta P_{TV} - kP_V P_T - cP_V \quad (6)$$

$$\frac{dP_v}{dt} = r\delta P_{Tv} - kP_v P_T - cP_v \quad (7)$$

$$\frac{dP_D}{dt} = R\delta P_{TD} - cP_D \quad (8)$$

$$\frac{dP_d}{dt} = r\delta P_{Td} - cP_d \quad (9)$$

最後に、変異原の作用の強さを表すパラメータ $\epsilon (0 \leq \epsilon \leq 1)$ をモデルに導入する。 ϵ は変異原の投与量を反映したパラメータである。変異原は、突然変異率を線形的に高めると仮定し、先の突然変異率、 $p_v, p_D, q_V, q_d, q_\phi$ を ϵ の関数として次のように定義する。

$$p_v(\epsilon) = p_v^0 + \epsilon \Delta p_v \quad (10)$$

$$p_D(\epsilon) = p_D^0 + \epsilon \Delta p_D \quad (11)$$

$$q_V(\epsilon) = q_V^0 + \epsilon \Delta q_V \quad (12)$$

$$q_d(\epsilon) = q_d^0 + \epsilon \Delta q_d \quad (13)$$

$$q_\phi(\epsilon) = q_\phi^0 + \epsilon \Delta q_\phi \quad (14)$$

ここで、 $p_v^0, p_D^0, q_V^0, q_d^0, q_\phi^0$ は、自然な突然変異率である。

3 変異率操作による自壊ダイナミクス

3.1 HIV-1 擬種集団の自壊現象

ここでは、変異原の作用 ϵ を強めると、HIV-1 擬種集団が自壊することを示す。まず状態変数 $\mathbf{P}$ を次のように定義する。

$$\mathbf{P} = (P_T, P_{TV}, P_{Tv}, P_{TD}, P_{Td}, P_V, P_v, P_D, P_d) \quad (15)$$

パラメータ	値
λ	$2 \times 10^4 \text{ cells} \cdot \text{day}^{-1} \cdot \text{ml}^{-1}$
d	0.01 day^{-1}
δ	0.7 day^{-1}
k	$10^{-7} \text{ copies}^{-1} \cdot \text{ml}^{-1} \cdot \text{day}^{-1}$
R	100
r	10
c	13 day^{-1}
p_v^0	0.05 day^{-1}
p_D^0	0.1 day^{-1}
q_V^0	0.01 day^{-1}
q_d^0	0.2 day^{-1}
q_ϕ^0	0.1 day^{-1}
Δp_v	0.15 day^{-1}
Δp_D	0.3 day^{-1}
Δq_V	0.01 day^{-1}
Δq_d	0.3 day^{-1}
Δq_ϕ	0.1 day^{-1}

表 1: パラメータ値

また自壊状態を次のように定義する.

$$P^* = \left(\frac{\lambda}{d}, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0\right) \quad (16)$$

なお, この自壊状態 P^* は, 常微分方程式 (1)-(9) の固定点でもある. シミュレーション実験では, HIV-1 の野生型 V が感染した細胞が 1 個存在する状態をシミュレーションの初期値とした. つまり,

$$P_0 = \left(\frac{\lambda}{d}, 1, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0\right) \quad (17)$$

である. 一方, 使用したパラメータの値は表 1 にまとめた. ここで突然変異率の値は, 文献 [2], その他のモデルパラメータの値は, 文献 [8] を参考に決定した.

図 2a, b は, 変異原の作用がない場合 ($\epsilon=0.0$) とある場合 ($\epsilon=0.6$) における野生型ウイルス V の量を示したものである. 変異原の作用がないとき, 野生型ウイルスは一定量維持され続けるが, 変異原の存在下ではその量はゼロとなる. またこのとき, 状態変数 P は P^* となる. つまり, 変異原の作用により HIV-1 擬種集団は自壊したことになる. 次節では, 自壊状態の漸近安定性解析から, 自壊が起こる力学的条件を明らかにする.

3.2 自壊状態 P^* の漸近安定性解析

自壊状態 P^* に対する漸近安定性解析の結果, P^* が不安定になる条件として次の不等式が得られる.

$$h(\epsilon) > g \quad (18)$$

ここで,

$$h(\epsilon) \equiv \frac{1}{2} \{h_+(\epsilon) + \sqrt{h_-(\epsilon)^2 + 4rRq_V(\epsilon)p_v(\epsilon)}\} \quad (19)$$

$$g \equiv 1 + \frac{cd}{k\lambda} \quad (20)$$

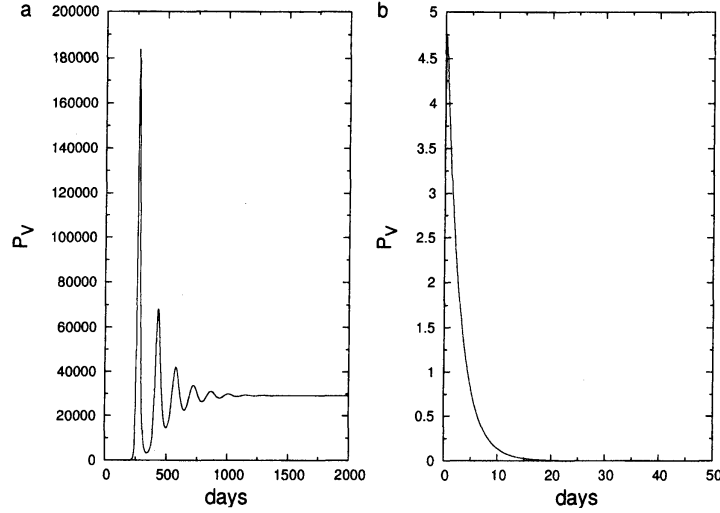


図 2: HIV-1 擬種集団の自壊現象: a. 変異原なし ($\epsilon=0.0$) b. 変異減あり ($\epsilon=0.6$)

ただし,

$$\begin{aligned} h_+(\epsilon) &\equiv rQ_v(\epsilon) + RQ_V(\epsilon) \\ h_-(\epsilon) &\equiv rQ_v(\epsilon) - RQ_V(\epsilon) \\ Q_v(\epsilon) &\equiv 1 - (q_V(\epsilon) + q_d(\epsilon) + q_\phi(\epsilon)) \\ Q_V(\epsilon) &\equiv 1 - (p_v(\epsilon) + p_D(\epsilon)) \end{aligned}$$

なお, $Q_v(\epsilon)$, $Q_V(\epsilon)$ はウイルス v, V の複製忠実度である.

3.3 ウイルス産生率 R と自壊の関係性

まず, ウイルス産生率 R と r をそれぞれ g で正規化した $\bar{R}(\equiv \frac{R}{g})$, $\bar{r}(\equiv \frac{r}{g})$ を定義する. このとき, 式 (18) を $\bar{R}$ に関して解くことにより, $\bar{R}$ と自壊の関係が明らかになる.

- $\bar{R} < \bar{R}_c(0)$ のとき, ϵ の値によらず自壊する
- $\bar{R}_c(0) < \bar{R} < \bar{R}_c(1)$ のとき, ϵ の値により自壊する
- $\bar{R} > \bar{R}_c(1)$ のとき, ϵ の値によらず自壊しない

ここで, $\bar{R}_c(\epsilon)$ は次のように与えられる.

$$\bar{R}_c(\epsilon) \equiv \frac{\bar{r}_c(\epsilon) \frac{Q_v(\epsilon)}{Q_V(\epsilon)} (\bar{r} - Q_v(\epsilon)^{-1})}{\bar{r} - \bar{r}_c(\epsilon)} \quad (21)$$

ただし,

$$\bar{r}_c(\epsilon) \equiv \frac{Q_V(\epsilon)}{(Q_V(\epsilon)Q_v(\epsilon) - q_V(\epsilon)p_v(\epsilon))} \quad (22)$$

なお, $\bar{R}$ は以下の条件を満足する必要がある.

$$\bar{R} > \bar{r} \quad (23)$$

解析の結果, 正規化ウイルス産生率 $\bar{R}$ が $\bar{R}_c(0)$ 未満では, 変異原を使用するまでもなく, HIV-1 擬種集団が自壊すること, また突然変異率操作により自壊を誘導可能な正規化ウイルス産生率には上限 $\bar{R}_c(1)$ が存在することが明らかとなった. この上限は突然変異誘導によるエイズ治療の限界を示しており興味深い.

また、ウイルス産生率を正規化したことで、式 (21) から $\bar{R}$ と $\bar{r}$ の依存関係がはっきりする。野生型ウイルスの産生率 R と変異体の産生率 r の自壊に関する関係性については、別に議論する予定である。

ところで、ここで検討した方法を、実際のエイズ患者の治療に適用するとどのような予測結果が得られるだろうか。Haase らの測定 [9] によれば、 R の値はおよそ 100 である。そこで R を 100 と仮定すると、 $\bar{R}$ は 1.51 となる。また、表 1 のパラメータ値を使うと、 $\bar{R}_c(0)$ と $\bar{R}_c(1)$ の値はそれぞれ 1.18 と 2.52 となり、 $\bar{R}$ はその範囲に含まれる。よって HIV-1 擬種集団は、変異原の非存在下では自壊しないが、変異原存在下でその作用をある一定値以上に高めることで自壊すると予測される。

4 おわりに

本論は、変異原により HIV-1 の突然変異率を致死的なレベルにまで高めることで、HIV-1 擬種集団を自壊に導く手法の実現性について理論的に考察した。その結果、自壊を誘導可能なウイルス量に上限値が存在すること、また変異原存在下では、HIV-1 擬種集団が自壊する可能性があることを明らかにした。

近い将来、ここで検討した変異導入の手法が理論的に確立され、さらに「ウイルスリザーバー」[10] のウイルス貯蔵ダイナミクスや自壊ダイナミクスの理解が進むことで、現時点では大変難しい体内からのウイルス排除を可能とする治療法が実現すると考えている。

参考文献

- [1] Hahn BH. Genetic variation in HTLV-III/LAV over time in patients with AIDS or at risk for AIDS. *Science*, **232**(4757): 1548-53, 1986.
- [2] L M Mansky and H M Temin. Lower in vivo mutation rate of human immunodeficiency virus type 1 than that predicted from the fidelity of purified reverse transcriptase. *J Virol.*, **69**(8): 5087—5094, 1995.
- [3] Daifuku R. Stealth nucleosides: mode of action and potential use in the treatment of viral diseases. *BioDrugs*, **17**(3):169-77, 2003.
- [4] Lawrence A. Loeb, John M. Essigmann, Farhad Kazazi, Jue Zhang, Karl D. Lethal mutagenesis of HIV with mutagenic nucleoside analogs. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **96**(4): 1492—1497, 1999.
- [5] M. Eigen. Selforganization of matter and the evolution of biological macromolecules. *Naturwissenschaften*, **58**(10): 465-523, 1971.
- [6] Manrubia, S. C., Domingo, E. and La ' zaro. Pathways to extinction: beyond the error threshold. *Phil.Trans. R. Soc. B*, **365**(1548): 1943—1952, 2010.
- [7] Perelson AS, Neumann AU, Markowitz M, Leonard JM, Ho DD. HIV-1 dynamics in vivo: virion clearance rate, infected cell life-span, and viral generation time. *Science*, **271**(5255):1582-6, 1996.
- [8] Callaway DS, Perelson AS. HIV-1 infection and low steady state viral loads. *Bull. Math. Biol.*, **64**(1): 29-64, 2002.
- [9] Haase, A.T. et al. Quantitative image analysis of HIV-1 infection in lymphoid tissue. *Science*, **274**(5289): 985-9, 1996.
- [10] Eisele E, Siliciano RF. Redefining the viral reservoirs that prevent HIV-1 eradication. *Immunity*, **37**(3):377-88, 2012.