

変異原と抗 HIV 薬の併用による HIV-1 致死的突然変異生成に関する数理的研究

豊橋技術科学大学工学部情報・知能工学系
原田耕治*

1 はじめに

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。2014 年の NIID による調査では、薬剤耐性 HIV 株に感染する新規患者は一定割合存在しており、その割合は約 10% に上る。この事実は、将来にわたり多剤併用療法がエイズ治療に有効である保証は無いことを示唆している。そのため cART に替わる新たな治療法の確立が望まれており、実現可能性のある新規治療法の一つとして「致死的突然変異生成法」[1, 2, 3] が検討されている。この方法では、抗 HIV-1 薬として核酸類似物 (変異原) を使用し、HIV-1 ゲノムの合成過程において、ウイルス遺伝子に変異を挿入することで遺伝情報を破壊し、ウイルス形成プロセスを阻害することによりエイズ治療を行う。

本研究では、まず致死的突然変異生成法によるエイズ治療効果に関して数理的に検討した。具体的には、変異原存在下における HIV-1 の感染・複製過程を連立の常微分方程式として数理モデル化し、完治状態 (体内の HIV-1 が消失した状態) が漸近安定となる条件を解析的に導出した。そして、変異原の効用がある閾値以上であるときエイズが完治することを示した。次に、変異原の効用の閾値をできるだけ低減することを目指し、変異原と既存の抗 HIV-1 薬 (逆転写酵素阻害剤) の併用効果について解析的に検討した。解析の結果、既存薬との併用により変異原の効用の閾値を低減可能であることを明らかにした。この結果は、変異原または抗 HIV-1 薬単独ではウイルス抑制効果が十分ではないが、併用することでウイルス抑制が可能となることを示したウイルス継代実験の結果 [4] の説明を与える。

2 HIV-1 感染過程数理モデル

2.1 HIV-1 遺伝子

HIV-1 の感染性及びウイルス産生能力に係る遺伝子として Protease (PR) と Trans-Activator of Transcription (Tat) を考える。Tat に変異が挿入されることにより、ウイルス RNA の転写率が低下し、結果ウイルス産生量が低下する。一方、PR に変異が挿入されると、子ウイルスが未成熟のまま出芽し、子ウイルスの感染性が奪われる。ここでは、Tat および PR に変異がある場合と無い場合を考える。つまり、2bit の HIV 遺伝子を考える。Tat および PR に変異がない HIV-1 を V 、Tat のみに変異が入り、ウイルス産生率が低下した HIV-1 を v とする。一方、PR のみに変異が入り、感染能力を失った HIV-1 を D とする。Tat と PR の両

* E-mail: harada@cs.tut.ac.jp

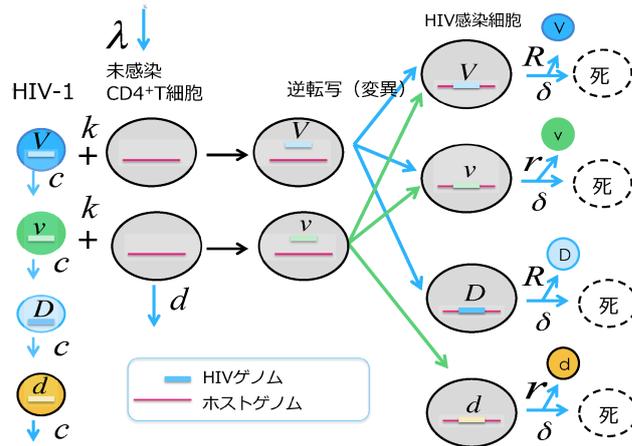


図1 HIV-1 感染複製過程

方に変異がある HIV-1 を d とする。

2.2 感染複製過程

図1は、HIV-1の感染、変異、複製の過程を示している。未感染状態にあるフリーな HIV-1 は、その遺伝子型によらず一定の割合 c で除去されるとする。一方、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、RNA(+) は逆転写酵素により DNA へと変換される。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、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。一方、フリーなウイルス D, d は、感染能力を持たないため、上記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。

以上の設定で HIV-1 の感染複製過程を数理モデル化した。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。

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

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、 $P_{TV}, P_{Tv}, P_{TD}, P_{Td}$ で表すと、それらの時間変化は次の4つの常微分方程式で記述できる。

$$\frac{dP_{TV}}{dt} = Q_V k P_V P_T + q_v k P_v P_T - \delta P_{TV}, \quad (2)$$

$$\frac{dP_{Tv}}{dt} = p_v k P_V P_T + Q_v k P_v P_T - \delta P_{Tv}, \quad (3)$$

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

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

そこで, Q_V, Q_v は

$$Q_V \equiv 1 - (p_v + p_D), \quad (6)$$

$$Q_v \equiv 1 - (q_V + q_d). \quad (7)$$

と定義される. 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, それらの時間変化はそれぞれ以下の方程式で記述できる.

$$\frac{dP_V}{dt} = R\delta P_{T_V} - kP_V P_T - cP_V \quad (8)$$

$$\frac{dP_v}{dt} = r\delta P_{T_v} - kP_v P_T - cP_v \quad (9)$$

$$\frac{dP_D}{dt} = R\delta P_{T_D} - cP_D \quad (10)$$

$$\frac{dP_d}{dt} = r\delta P_{T_d} - cP_d \quad (11)$$

ここで, 変異原の効用を表すパラメータ $\epsilon_M (0 \leq \epsilon_M \leq 1)$ をモデルに導入する. 変異原は, 変異率を線形的に高めると仮定し, 先に導入した変異率, p_v, p_D, q_V, q_d を ϵ_M の関数として次のように定義する.

$$p_v(\epsilon_M) = p_v^0 + \epsilon_M \Delta p_v \quad (12)$$

$$p_D(\epsilon_M) = p_D^0 + \epsilon_M \Delta p_D \quad (13)$$

$$q_V(\epsilon_M) = q_V^0 + \epsilon_M \Delta q_V \quad (14)$$

$$q_d(\epsilon_M) = q_d^0 + \epsilon_M \Delta q_d \quad (15)$$

ここで, $p_v^0, p_D^0, q_V^0, q_d^0$ は, 逆転写酵素による変異率である.

3 変異原の効用の閾値

系の状態変数 P を次のように定義する.

$$P = (P_T, P_{T_V}, P_{T_v}, P_{T_D}, P_{T_d}, P_V, P_v, P_D, P_d) \quad (16)$$

またエイズからの完治状態を次のように定義する.

$$P^* = \left(\frac{\lambda}{d}, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0 \right) \quad (17)$$

なお, この完治状態 P^* は, 常微分方程式 (1)-(11) 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,

$$P_0 = \left(\frac{\lambda}{d}, 1, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0 \right) \quad (18)$$

である.

一方, パラメータの値は, $\lambda = 10^4 \text{ cells} \cdot \text{day}^{-1} \cdot \text{ml}^{-1}$, $d = 0.01 \text{ day}^{-1}$, $\delta = 0.7 \text{ day}^{-1}$, $k = 10^{-7} \text{ copies}^{-1} \cdot \text{ml}^{-1} \cdot \text{day}^{-1}$, $R = 100$, $r = 10$, $c = 13 \text{ day}^{-1}$, $p_v^0 = 0.05 \text{ day}^{-1}$, $p_D^0 = 0.01 \text{ day}^{-1}$, $q_V^0 = 0.01 \text{ day}^{-1}$, $q_d^0 = 0.01 \text{ day}^{-1}$, $\Delta p_v = 0.15 \text{ day}^{-1}$, $\Delta p_D = 0.3 \text{ day}^{-1}$, $\Delta q_V = 0.01 \text{ day}^{-1}$, $\Delta q_d = 0.3 \text{ day}^{-1}$ である. ここで変異率の値は文献 [5], その他のパラメータの値は文献 [6] を参考に決定した.

変異原存在下での完治する条件を導出するため、完治状態 P^* に対する漸近安定性解析を行った。その結果、 P^* が漸近安定になる条件として次の不等式が得られる。

$$h(\epsilon_M) < g_M \quad (19)$$

ここで、

$$h(\epsilon_M) \equiv \frac{1}{2} \{ h_+(\epsilon_M) + \sqrt{h_-(\epsilon_M) + 4rRq_V(\epsilon_M)p_v(\epsilon_M)} \} \quad (20)$$

$$g_M \equiv 1 - \frac{cd}{k\lambda} \quad (21)$$

ただし、

$$\begin{aligned} h_+(\epsilon_M) &\equiv rQ_v(\epsilon_M) + RQ_V(\epsilon_M) \\ h_-(\epsilon_M) &\equiv rQ_v(\epsilon_M) - RQ_V(\epsilon_M) \end{aligned} \quad (22)$$

図2は、変異原の効用 ϵ_M に対して関数 $h(\epsilon_M)$ と g_M を描いたものである。ここで、 $h(\epsilon_M) = g_M$ となる ϵ_M

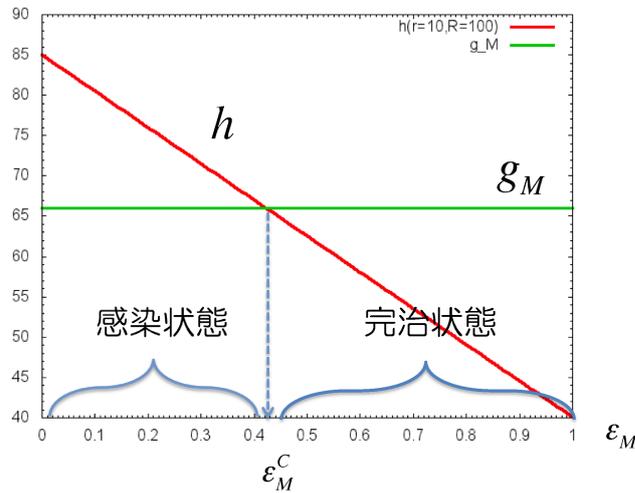


図2 ウイルス産生量 R と r をそれぞれ 100, 10 としたときの関数 $h(\epsilon_M)$ と g_M の関係

を ϵ_M^C とすると、

- $\epsilon_M < \epsilon_M^C$ のとき、完治状態 P^* は不安定
- $\epsilon_M > \epsilon_M^C$ のとき、完治状態 P^* は安定

この結果から致死性突然変異生成法によりエイズを完治させるには、治療に使用する変異原の効用がある閾値 ϵ_M^C を超えていなければならないことが示唆される。Mullins らは、エイズ患者に対し変異原としてプロドラッグ KP1461 を 1 日 2 回 1600mg を 124 日間投与する治療を実施したが、ウイルス抑制効果は観察されなかった [7]。上記の結果を考慮すると、この治療が失敗した原因として、プロドラッグの効用がエイズ完治に必要な閾値に達していなかった可能性が考えられる。

4 抗 HIV-1 薬の併用による変異原の効用の閾値低減効果

前章で変異原の効用が治療に十分でない可能性があることを指摘したが、変異原の効用を物理化学的に改善することは容易なことではない。そこでこの章では既存の抗 HIV-1 薬との併用により変異原の効用の閾値自体を下げることを目標とし、その併用効果について検討する。ここで導入する既存薬は逆転写酵素阻害剤 (RTI) である。逆転写酵素阻害剤には、核酸系と非核酸系の阻害剤が存在するが、どちらも HIV-1 RNA から HIV-1 DNA を合成する逆転写過程を阻害する。逆転写酵素阻害剤が逆転写過程を阻害する割合をその効用とし ϵ_{RTI} ($0 \leq \epsilon_{RTI} \leq 1$) で表すと、逆転写酵素の効果はモデルの中の各変異率に $(1 - \epsilon_{RTI})$ を掛けることで取り入れることができる。逆転写酵素阻害剤の効用 ϵ_{RTI} を新たに取り入れたモデルで、前節と同様に完治状態 P^* が漸近安定となる条件を新たに導出すると、

$$h(\epsilon_M) < \frac{g_M}{1 - \epsilon_{RTI}} \quad (23)$$

となる。ここで、変異原の効用の閾値 ϵ_M^c は、式 (23) の不等号を等号にした条件を満たす ϵ_M である。

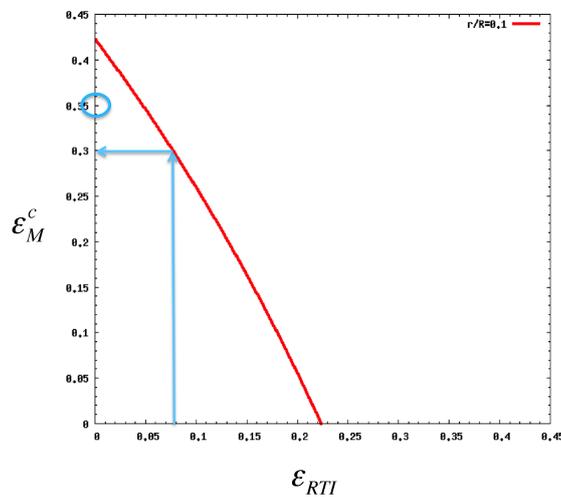


図3 逆転写酵素阻害剤を併用したことによる変異原の効用の閾値の低減。グラフの右上領域は完治状態、左下領域は感染状態を表す。

図3は、逆転写酵素阻害剤の併用による変異原の効用の閾値の低減効果を表しており、横軸に逆転写酵素阻害剤の効用 ϵ_{RTI} 、縦軸に変異原の効用の閾値 ϵ_M^c を示している。図のグラフは右下がりとなっており、逆転写酵素阻害剤の効用にほぼ相当する量の変異原の効用の閾値を低減可能であることが分かる。この話題と関連した in vitro 実験として、逆転写酵素阻害剤と変異原を併用した HIV-1 継代実験 [4] がある。この実験では、逆転写酵素阻害剤または変異原の単独使用の場合、複数継代後もウイルスは存在しつづけるが、併用した場合は4継代目でウイルスが消滅する。図3の結果をもとになぜ併用したときに限りウイルスが消滅したのか一つの説明を与えることができる。まず逆転写酵素または変異原の単独使用では、ウイルスが消滅しないということから、それぞれの効用はグラフの左下に位置していると考えられる。そこで今、逆転写酵素阻害剤の効用 ϵ_{RTI} を0.08、変異原の効用 ϵ_M を0.35と仮定する。一方、このとき変異原の効用の閾値は逆転写酵素阻害剤が存在することで0.42から0.3に低下する。その結果、変異原の効用(0.35)はその閾値(0.3)を超えられる

ようになるため、併用した場合はウイルスが消滅したと考えられる。

5 おわりに

本論では、致死性突然変異生成法によるエイズ治療効果について数理的に検討した。そして、エイズの完治には、変異原の効用が閾値を超える必要があることを指摘した。さらに、その閾値を低減するために、逆転写酵素阻害剤を利用できることを指摘した。この結果により、変異原の効用が単剤での治療には不十分であるときにも、逆転写酵素阻害剤と併用することでエイズ治療効果があると期待され、変異原の効用の改善を待つことなくエイズ治療に実用できる可能性がある。今後は、逆転写酵素阻害剤以外の抗 HIV-1 薬との併用効果や併用時における相加・相乗効果などを理解する必要がある。

参考文献

- [1] M. Eigen. Selforganization of matter and the evolution of biological macromolecules. *Naturwissenschaften*, **58**(10): 465-523, 1971.
- [2] 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.
- [3] M. J. Dapp, S. E. Patterson, and L. M. Mansky. Back to the future: revisiting HIV-1 lethal mutagenesis. *Trends in Microbiology*, **21**(2), 2013.
- [4] Natalia T., et al. Combination of a mutagenic agent with a reverse transcriptase inhibitor results in systematic inhibition of HIV-1 infection. *Virology*, **338**: 1-9, 2005.
- [5] Mansky LM, Temin HM. 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): 5087-94, 1995.
- [6] Callaway DS, Perelson AS. HIV-1 infection and low steady state viral loads. *Bull. Math. Biol.*, **64**(1): 29-64, 2002.
- [7] James I. M., et al. Mutation of HIV-1 Genomes in a Clinical Population Treated with the Mutagenic Nucleoside KP1461. *PLoS One*, 14;6(1):e15135, 2001.