

数理モデルによる抗ウイルス薬の薬効評価系の確立

小泉 吉輝^a, 岩見 真吾^{b*}

金沢大学医薬保健学域医学類^a, 九州大学大学院理学院理研院生物科学部門^b

1 はじめに

C型肝炎ウイルス (HCV) やヒト免疫不全ウイルス (HIV) 等の治療において、副作用・治療費・耐性ウイルス出現リスクの軽減や治療効果の増大を目的とし、積極的に多剤併用療法が行われている。従って、開発された新規の抗ウイルス薬Aの薬効を評価する時、培養細胞を用いて既存の抗ウイルス薬Bと併用する事で、それらの抗ウイルス効果が相乗的、相加的、相反的のうちどのよう働くのかを調べる事が重要になっている。多剤併用療法は、単剤投与に比べて多くの要素の相互作用によりその抗ウイルス効果が規定される極めて複雑な治療法である。しかしながら、現在行われている併剤時の薬効評価法は、各薬剤A・Bの投与量組み合わせを多数用意し、実験で用いた薬剤投与量と測定した抗ウイルス効果を「薬効評価式」に代入する事で薬剤A&Bの組合せが相乗的、相加的、相反的であるかを判定する、という Black Box 的な方法である。この Black Box 的な方法では、薬効を網羅的に解析する必要があるため、労力・時間・資金がかかる上、薬剤A&Bが相乗的、相加的、相反的になるメカニズムを明らかにする事はできない。本研究では、数理モデルを軸とした数理生物学的手法を駆使して、抗ウイルス薬の薬効を定量的に検証・評価し、最適な投薬戦略をデザインするための理論を考察した。

2 結果

2.1 ウイルス感染実験

国立感染症研究所ウイルス第二部の渡士幸一（主任研究官）の協力により HCV 感染培養系を用いて、感染力価を基に各薬剤の抗 HCV 効果を調べた。HCV 生活環の異なる

*本研究は、総合科学技術会議により制度設計された最先端研究開発支援プログラム（FIRST 合原最先端数理モデルプロジェクト）により、日本学術振興会を通して助成されたものです。

ステップを阻害する抗 HCV 剤として具体的には、HCV タンパク質のプロセッシングを阻害するプロテアーゼ阻害剤 telaprevir、RNA 分解を促進する IFNa、RNA 複製を阻害するシクロフィリン阻害剤 cyclosporine、放出を阻害するホスホリパーゼ阻害剤 halopemide を用い、これらの 2 剤併用時、及び、それぞれ単剤使用時の抗 HCV 効果を測定した。本稿では、IFNa と halopemide による薬効評価実験データを用いて、数理モデルによる解析結果を説明する。

2.2 細胞内ウイルス複製の数理モデル

まず、HCV の細胞内複製動態を正確に再現し、計算機内で抗ウイルス薬の薬効評価を定量的に実施できる数理モデルを開発する。HCV 感染細胞では、はじめにリボゾームと+鎖 RNA: $R_+(t)$ が形成する翻訳複合体: $T(t)$ からポリタンパク質: $P(t)$ が翻訳される。ここで、ポリタンパク質はプロテアーゼによる切断を受け、非構造タンパク質: $N(t)$ と構造タンパク質: $S(t)$ を産生する。その後、非構造タンパク質が+鎖 RNA と鎖 RNA: $R_-(t)$ と反応する事で±鎖 RNA の複製が進む。そして、構造タンパク質と+鎖 RNA が集合する事でウイルス粒子を形成し、細胞外に感染性ウイルス: $V(t)$ が放出される。反応速度論を用いてこれらのウイルス複製動態を記述すれば以下のような数理モデルが得られる:

$$\begin{aligned}
\frac{dR_+(t)}{dt} &= \alpha_{R_+} N(t) R_-(t) + \alpha_P T(t) - \alpha_T R_{ibo} R_+(t) - \alpha_v S(t) R_+(t) - \delta_{R_+} R_+(t), \\
\frac{dR_-(t)}{dt} &= \alpha_{R_-} N(t) R_+(t) - \delta_{R_-} R_-(t), \\
\frac{dT(t)}{dt} &= \alpha_T R_{ibo} R_+(t) - \alpha_B T(t) - \delta_T T(t), \\
\frac{dP(t)}{dt} &= \alpha_P T(t) - \alpha_S P(t) - \delta_P P(t), \\
\frac{dS(t)}{dt} &= \alpha_S P(t) - \alpha_v S(t) R_+(t) - \delta_S S(t), \\
\frac{dN(t)}{dt} &= \alpha_N P(t) - (\alpha_{R_+} R_-(t) + \alpha_{R_-} R_+(t)) N(t) - \delta_N N(t), \\
\frac{dV(t)}{dt} &= \alpha_v S(t) R(t).
\end{aligned} \tag{1}$$

また、数理モデル (1) を用いて、感染実験により測定される感染性ウイルスの感染力価 $I(t)$ は、以下の式で表される:

$$I(t) = \int_0^t \frac{dV(s)}{ds} \exp(-\delta_V(t-s)) ds \tag{2}$$

パラメータ	定義 (molecule/h)	数値計算での値
α_{R+}	+鎖 RNA 産生率	850
α_{R-}	-鎖 RNA 産生率	1.7
α_T	複製複合体産生率	80
α_B	リボゾームが離れる割合	100
α_P	ポリタンパク質産生率	100
α_S	構造タンパク質産生率	0.6
α_N	非構造タンパク質産生率	0.6
α_V	ビリオン粒子産生率	100
R_{ibo}	リボゾームの総量	1000
δ_{R+}	+鎖 RNA 減衰率	0.07
δ_{R-}	-鎖 RNA 減衰率	0.07
δ_T	複製複合体減衰率	0.015
δ_P	ポリタンパク質減衰率	0.06
δ_S	構造タンパク質減衰率	0.06
δ_N	非構造タンパク質減衰率	0.06
δ_V	ビリオン粒子減衰率	0.68

表 1: 数理モデルのパラメータ

数理モデル (1) 及び式 (2) で使われている各パラメータの定義と数値計算で用いる値は表 1 にまとめている [1, 2]。

2.3 抗 HCV 剤使用時の数理モデルによる解析

IFNa は RNA 分解を促進する事が知られている。IFNa の投与量依存的な薬効がヒル式に従うと仮定すれば、薬効 ε_{IFN} は、次のように表される；

$$\varepsilon_{IFN}(c) = \frac{E_{IFN}^{max} c^{h_{IFN}}}{c^{h_{IFN}} + a_{IFN}}$$

ここで E_{IFN}^{max} は薬効最大値、 a_{IFN} は 50% の薬効最大値を実現するための投与量、 h_{IFN} はヒル係数、 c は薬剤投与量を表している。従って、数理モデル (1) を用いて IFNa の抗ウイ

ルス効果を記述する数理モデルは以下で与えられる；

$$\begin{aligned}
\frac{dR_+(t)}{dt} &= \alpha_{R_+} N(t) R_-(t) + \alpha_P T(t) - \alpha_T R_{ibo} R_+(t) - \alpha_V S(t) R_+(t) - \delta_{R_+} (1 + \varepsilon_{IFN}) R_+(t), \\
\frac{dR_-(t)}{dt} &= \alpha_{R_-} N(t) R_+(t) - \delta_{R_-} (1 + \varepsilon_{IFN}) R_-(t), \\
\frac{dT(t)}{dt} &= \alpha_T R_{ibo} R_+(t) - \alpha_B T(t) - \delta_T T(t), \\
\frac{dP(t)}{dt} &= \alpha_P T(t) - \alpha_S P(t) - \delta_P P(t), \\
\frac{dS(t)}{dt} &= \alpha_S P(t) - \alpha_V S(t) R_+(t) - \delta_S S(t), \\
\frac{dN(t)}{dt} &= \alpha_N P(t) - (\alpha_{R_+} R_-(t) + \alpha_{R_-} R_+(t)) N(t) - \delta_N N(t), \\
\frac{dV(t)}{dt} &= \alpha_V S(t) R_+(t).
\end{aligned} \tag{3}$$

式 (2) で表された感染力価と同様に、IFNa 使用時の数理モデル (3) における感染力価を $I_{IFN}(t)$ と定義すれば、感染実験から測定される IFNa の抗 HCV 効果は

$$D_{IFN}(t) = \frac{I(t) - I_{IFN}(t)}{I(t)} \tag{4}$$

となる。図 1A は、式 (4) による $t = 72$ 時間後に測定された IFNa 未使用時及び IFNa 使用時の実験データから計算された抗 HCV 効果の予測である。最小二乗法を用いて、推定された薬効パラメータは $E_{IFN}^{max} = 18000$ 、 $a_{IFN} = 10$ 、 $h_{IFN} = 1.8$ であった。

一方、halopemide はビリオン粒子放出を阻害する事が知られている事より、同様に投与量依存的な薬効がヒル式に従うと仮定すれば、薬効 ε_{halo} は、

$$\varepsilon_{halo}(c) = \frac{E_{halo}^{max} c^{h_{halo}}}{c^{h_{halo}} + a^{h_{halo}}}$$

と表される。また、 E_{halo}^{max} は薬効最大値、 a_{halo} は 50% の薬効最大値を実現するための投与量、 h_{halo} はヒル係数、 c は薬剤投与量を表している。従って、halopemide の抗ウイルス効

果を記述する数理モデルは以下で与えられる；

$$\begin{aligned}
 \frac{dR_+(t)}{dt} &= \alpha_{R_+} N(t) R_-(t) + \alpha_P T(t) - \alpha_T R_{ibo} R_+(t) - \alpha_V S(t) R_+(t) - \delta_{R_+} R_+(t), \\
 \frac{dR_-(t)}{dt} &= \alpha_{R_-} N(t) R_+(t) - \delta_{R_-} R_-(t), \\
 \frac{dT(t)}{dt} &= \alpha_T R_{ibo} R_+(t) - \alpha_B T(t) - \delta_T T(t), \\
 \frac{dP(t)}{dt} &= \alpha_P T(t) - \alpha_S P(t) - \delta_P P(t), \\
 \frac{dS(t)}{dt} &= \alpha_S P(t) - \alpha_V S(t) R_+(t) - \delta_S S(t), \\
 \frac{dN(t)}{dt} &= \alpha_N P(t) - (\alpha_{R_+} R_-(t) + \alpha_{R_-} R_+(t)) N(t) - \delta_N N(t), \\
 \frac{dV(t)}{dt} &= \alpha_V (1 - \varepsilon_{halo}) S(t) R_+(t).
 \end{aligned} \tag{5}$$

halopemide 使用時の数理モデル (5) における感染力価を $I_{halo}(t)$ と定義すれば、感染実験から測定される halopemide の抗 HCV 効果は

$$D_{halo}(t) = \frac{I(t) - I_{halo}(t)}{I(t)} \tag{6}$$

となる。図 1B は、式 (6) による $t = 72$ 時間後に測定された halopemide 未使用時及び IFNa 使用時の実験データから計算された抗 HCV 効果の予測である。最小二乗法を用いて、推定された薬効パラメータは $E_{halo}^{max} = 1$ 、 $a_{halo} = 1.34$ 、 $h_{halo} = 0.89$ であった。

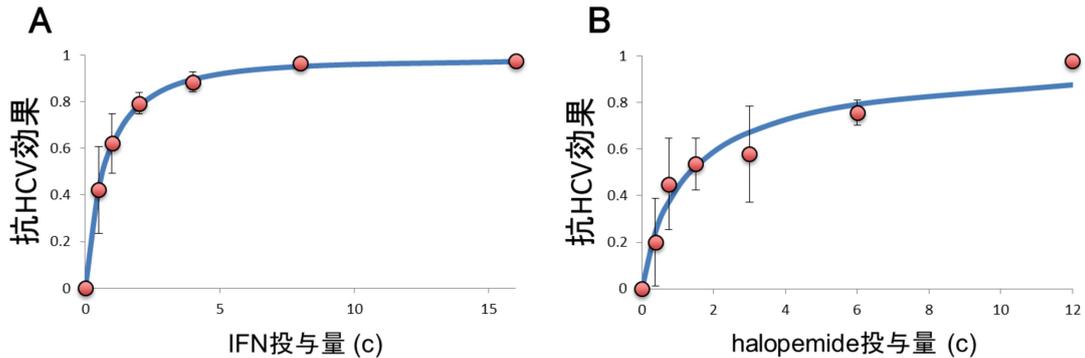


図 1: 国立感染症研究所で行った Huh-7 細胞を用いた抗 HCV 剤の薬効評価実験のデータと数理モデルによる予測。我々の解析により数理モデル (1) は、単剤投与時の抗 HCV 効果を完璧に再現出来ている事が分かる。丸は 3 回行った実験の平均値、ひげは標準偏差を示している。また、実線は最適なパラメータを用いて数理モデルを計算した時の理論予測値である。

3 今後の展望

我々の解析により数理モデル (1) は、抗 HCV 薬単剤投与時の抗 HCV 効果をほとんど完璧に再現できる。また、もし数理モデル (1) が細胞内ウイルス複製を正確に記述できているのであれば、推定した薬効パラメータを用いて IFNa と halopemide を併剤使用した時の抗 HCV 効果を以下の数理モデルにより予測できるはずである；

$$\begin{aligned}
 \frac{dR_+(t)}{dt} &= \alpha_{R_+} N(t) R_-(t) + \alpha_P T(t) - \alpha_T R_{ibo} R_+(t) - \alpha_V S(t) R_+(t) - \delta_{R_+} (1 + \varepsilon_{IFN}) R_+(t), \\
 \frac{dR_-(t)}{dt} &= \alpha_{R_-} N(t) R_+(t) - \delta_{R_-} (1 + \varepsilon_{IFN}) R_-(t), \\
 \frac{dT(t)}{dt} &= \alpha_T R_{ibo} R_+(t) - \alpha_B T(t) - \delta_T T(t), \\
 \frac{dP(t)}{dt} &= \alpha_P T(t) - \alpha_S P(t) - \delta_P P(t), \\
 \frac{dS(t)}{dt} &= \alpha_S P(t) - \alpha_V S(t) R_+(t) - \delta_S S(t), \\
 \frac{dN(t)}{dt} &= \alpha_N P(t) - (\alpha_{R_+} R_-(t) + \alpha_{R_-} R_+(t)) N(t) - \delta_N N(t), \\
 \frac{dV(t)}{dt} &= \alpha_V (1 - \varepsilon_{halo}) S(t) R(t).
 \end{aligned}
 \tag{7}$$

実験にかかる労力・時間・資金の削減のため単剤時の薬効評価実験のデータのみから併剤時の薬効評価実験の結果を予測できるのであれば、極めて興味深い。また、数理モデルの数値計算結果と薬効評価式による計算結果を比較する事で、薬効が相乗・相加・相反的に働く組合せや投与量範囲を特定する事も可能になると考えられる。さらに、ウイルスタンパク質の増減の影響を推定できる。

今後は、数理モデルから得られる数値計算予測と実験から得られる実際のデータを統計的に比較検討する事で数理モデルの妥当性を評価し、数理モデルを軸に抗ウイルス薬の開発を加速させるような理論体系を構築して行く。

参考文献

- [1] Dahari H, Ribeiro RM, Rice CM and Perelson AS, Mathematical modeling of subgenomic hepatitis C virus replication in Huh-7 cells, *J. Virol.*, 81, 2(2007), pp750-760.

- [2] Nakabayashi J, A compartmentalization model of hepatitis C virus replication: An appropriate distribution of HCV RNA for the effective replication, *J. Theor. Biol.*, 300, 2012, pp110-117.