

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 8 月 23 日現在

機関番号：12702

研究種目：新学術領域研究（研究領域提案型）

研究期間：2012～2016

課題番号：24115008

研究課題名（和文）ウイルスー宿主攻防の数理科学解析

研究課題名（英文）Mathematical modeling and analysis of virus-host interaction

研究代表者

佐々木 顕 (Sasaki, Akira)

総合研究大学院大学・先端科学研究科・教授

研究者番号：90211937

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 90,400,000 円

研究成果の概要（和文）：ヒトの抗レトロウイルス蛋白質であるAPOBEC3G(A3G)と、それを拮抗阻害するHIV-1 Vifの共進化の数理モデル化を行い、Vif/A3G発現量の軍拡競争や共進化的振動の起こる条件を理論的に示した。また、宿主体内の複数部位で増殖するウイルスに対する最適な介入戦略をネットワーク動態の解析で明らかにした。

cell-to-cell感染を排除したHIV-1の感染実験と通常の培養実験の時系列データ解析により、cell-free感染とcell-to-cell感染の寄与率を定量化した。また、HIV-1制御因子A3Hの多型とVif多型の進化的なダイナミズムを、感染実験により明らかにした。

研究成果の概要（英文）：Coevolution of anti-retroviral protein APOBEC3G (A3G) of humans and its inhibitor Vif of HIV-1 is mathematically modeled, and revealed the conditions with which coevolution ends up with equilibrium or indefinite escalation of their expression levels. Intra-host dynamics of viruses with multiple tropism is also analyzed with the framework of network dynamics, and its R0-centrality analysis revealed the optimum intervention strategy that typically recommends extremely focussed intervention to the most amplifying tissue.

Comparing the time series data of the infection experiments that excluded cell-to-cell infection of HIV-1 and those with both cell-to-cell and cell-free infections, we quantified their relative contributions to the basic reproductive number of viruses. Infection experiments using polymorphic HIV restriction factor A3H reveals the roles of A3H restriction + type and this counteracting Vif type have played in the coevolutionary dynamism between human and HIV-1.

研究分野：理論ウイルス学

 キーワード：ウイルスと宿主の共進化 ヒト化マウス APOBEC Vif cell-to-cell感染 マルチトロピズム ネット
ワーク理論 時系列解析

1. 研究開始当初の背景

ウイルス研究領域では、ウイルス複製過程のシステムとして系統的な理論化はほとんど成功していなかった。ウイルス複製の数理モデル化にあたっては、それぞれの過程における分子変換率そして感染性ウイルスの産出率などのパラメーターが必要であり、それぞれのウイルスに適した細胞系の基礎データをもとに、その過程をシステムとして定量的かつ系列化した理論とその実証解析が要求される。このような、細胞ならびに個体内での複製プロセスまで考慮したウイルス増殖・複製の数理モデル構築はこれまでほとんどなされていなかった。また、実際の感染実験の時系列解析によるその理論と実験のフィードバックもほとんど例がなかった。

研究代表者は空間構造をもつ宿主集団のもとでの病原体の毒性の進化が双安定性や急激な強毒化が起こることや (Science, 2004), 理論と実験の両方によってバクテリアがファージ感染に対して利他的な自殺を行う戦略が進化する条件を示したり (Sci Rep, 2012), 宿主免疫系遺伝子多型や獲得免疫によるウイルスの包囲・追跡と病原体のエスケープの共進化過程 (Theor Pop Biol, 2006; Theor Pop Biol, 2009), 宿主抵抗性とウイルス病原性の軍拡競争の共進化ダイナミクス (Proc R. Soc Lond B., 2000; J Theor Biol, 2011), ゲノム内パラサイトであるホーミングエンドヌクレアーゼと宿主の抵抗性の共進化サイクル (Proc Natl Acad Sci USA, 2009) など、ウイルスの病原性と宿主の抵抗性・免疫応答との複雑な共進化の道筋や帰結についての理論的な研究を続けてきた。研究分担者はマウスへのヒト造血幹細胞移植により作製されるヒト化マウスを用いた HIV-1 感染動物モデルを確立し、ウイルス増殖・複製の再現実験に多くの経験があった。ウイルス複製に関する理論はウイルス培養実験や、分子生物学的解析等による検証を経てきたが、ウイルスの複製の分子基盤レベルまで踏み込んだ理論と実験のフィードバックは国際的にも大きく立ち後れていた。

2. 研究の目的

ウイルス-宿主攻防とその帰結 (佐々木・小柳) ウイルスの増殖機構と元来の生理機能過程の間での宿主因子の奪い合いのメカニズムを明らかにするとともに、それによってもたらされる宿主側の帰結について、宿主因子とウイルス因子との相互作用、および宿主因子が関与する細胞内の生理機能経路の各因子との相互作用について分子、原子レベルで攻防のメカニズムを明らかにすることを目的とした。宿主とウイルスの攻防、およびその帰結である宿主適応を、感染実験結果をもとに数理モデル化し、各ウイルスと宿主の攻防による個別論から一般論としてのウイルス感染現象の理解をめざした。

3. 研究の方法

ウイルスと宿主の均衡の帰結予測について、数理モデルの構築とその実証実験を融合させる試みを行った。ヘルペスウイルス、免疫不全ウイルス (HIV-1) などのウイルス遺伝子群の発現に続くウイルス産生と細胞破壊過程における、ウイルス分子群と細胞性因子の相互作用ダイナミズムの帰結について、数理モデルの構築 (佐々木) とその実証実験 (小柳) を行った。

4. 研究成果

宿主内でのウイルスと宿主の攻防の結果、ウイルスはダイナミックな遺伝的变化をとげる。ウイルスの複製とそれに対する細胞ならびに個体内宿主反応は、それぞれ遺伝的にプログラムされた機構が働く時系列システムである。これまでの記述的な理解から、帰結予測も含めた定量的な理論化を数理モデルによって行った。そして、実験による検証、およびモデルの改良を行った。

まず、手足口病を起こすエンテロウイルス 71 (EV71) の感染過程の数理モデル解析を行い、ウイルス株間でのそのバーストサイズおよび基本再生産数が、感染細胞の半減期に比べて顕著に異なることを見出した (Fukuhara et al. J. Virol. 2013)。次にヒトの抗ウイルス蛋白質であり塩基認識配列の異なる APOBEC3F と APOBEC3G と、それを拮抗阻害する HIV-1 Vif 蛋白質の共進化の数理モデル化を行い、ウイルス突然変異率を巡る宿主とウイルスの攻防の動態モデルを構築した (Kobayashi et al. J. Virol. 2014)。APOBEC3F と APOBEC3 によるウイルス突然変異率上昇と Vif の拮抗阻害による突然変異率の引き戻しの力のバランスにより、共進化過程がウイルス擬種分布の崩壊 (エラーカタストロフ) に至るか、突然変異率の過度の抑制によって免疫系からの抗原エスケープの能力を失うに至るか、ウイルスが両者をうまくバランスさせて最適な突然変異を維持できるか等の様々な共進化動態の帰結がどのような条件のもとで出現するかを解析し、Vif / APOBEC3F / APOBEC3G 発現量のタイムスケールで変動する共進化サイクルをもたらしうることを理論的に示した。

抗原進化ダイナミクスのモデル化に関しては宿主免疫をエスケープする突然変異体の流行と宿主免疫獲得の連鎖を確率過程で表すことにより、流行型の年次変化幅、抗原空間における進化軌道の直進性、進路の角度分布についての理論的な結果を得た。

また、宿主内の複数の組織で増殖する能力をもつウイルスの動態を、それぞれの組織での増殖と、ウイルス粒子の組織間移動を取り入れたモデルとして解析した。宿主体内の多数の部位が複雑な移動経路でつながったネットワーク上で増殖するウイルスについて、その挙動や治療の効果を探るのは困難と思われてきたが、R0 中心性の概念 (Yashima and

Sasaki 2016)と摂動展開を用いることにより、病原体が最も高い増殖率をもつ部位だけに集中的に介入する戦略が極めて有効であり、それ以外の部位への対策はほとんど効果がないこと等を解析的に明らかにした。

HIV-1 の感染には、細胞外に放出されたウイルス粒子が新たな標的細胞に感染する“cell-free 感染”と感染細胞が大量のウイルス粒子を標的細胞に直接接触により受け渡す“cell-to-cell 感染”という2つの様式がある。cell-to-cell 感染を阻害するために、培養フラスコを揺らしながら感染実験を行い細胞間の接触を物理的に抑制し、ウイルス感染実験から cell-to-cell 感染を排除した。基本再生産数“ R_0 ”は、ひとつの感染細胞が生み出す次代の感染細胞数を表す指標であり、Cell-free 感染の基本再生産数を R_{cf} 、cell-to-cell 感染の基本再生産数を R_{cc} と定義し、数理モデルを実際の感染実験から取得されるデータよりモデルの改良を行った。そして、コンピュータシミュレーションにより cell-to-cell 感染と cell-free 感染が混在する通常の培養系(静置培養)から、cell-free 感染のみの振とう培養系から取得した時系列データを解析し、それぞれの感染様式の寄与率を定量化した。(Iwami and Takeuchi et al. eLife, 2015)。

次に、HIV-1 制御因子の一つであり7つの遺伝子多型が知られている APOBEC3H について、生体レベルにおいて抗 HIV 活性を示すのか解析した。ところで HIV-1 株には APOBEC3H を拮抗阻害する Vif(hyper-Vif)と拮抗阻害しない Vif(hypo-Vif)が培養細胞実験から知られていた。まず抗 HIV 活性を示す APOBEC3H をコードする遺伝子型(stable APOBEC3H)を持つヒト造血幹細胞を移植したマウス(ヒト化マウス)に、これら hyper-Vif と hypo-Vif の配列をそれぞれ持つ HIV-1 を共感染後、マウス血漿中に検出されるウイルスの vif の配列を決定した。その結果、まず hyper-Vif ウイルスが優位に検出された。さらに接種時には hypo-Vif ウイルスに、拮抗阻害活性を獲得させる2つのアミノ酸が変異したウイルスを見いだした。そして、3000株以上の HIV 配列ならびに1000人以上のヒトゲノムのデータベース解析により、APOBEC3H の抗ウイルス効果を相殺する Vif の2アミノ酸の多型とヒト集団内での APOBEC3H の遺伝子多型との関連性について、数理モデル解析と一致することを見出した。ヒト集団の中で HIV が流行拡大する過程において、ウイルスが APOBEC3H をどのように回避・克服してきたのか分かった(Nakano, et al. PLoS Pathog, 2017)。

5. 主な発表論文等

(研究代表者, 研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計35件)

1. Nakano Y, Misawa N, Juarez-Fernandez G, Moriwaki M, Nakaoka S, Funo T, Yamada

- E, Soper A, Yoshikawa R, Ebrahimi D, Tachiki Y, Iwami S, Harris RS, Koyanagi Y, Sato K. HIV-1 competition experiments in humanized mice show that APOBEC3H imposes selective pressure and promotes virus adaptation. PLoS Pathog. 13: e1006348 (2017) doi: 10.1371/journal.ppat.1006348.
2. Yashima K, Sasaki A. Spotting epidemic keystones by R_0 sensitivity analysis: High-risk stations in the Tokyo metropolitan area. PLoS ONE 11: e0162406 (2016) doi: 10.1371/journal.pone.0162406
3. Ikeda H, Nakaoka S, de Boer RJ, Morita S, Misawa N, Koyanagi Y, Aihara K, Sato K, Iwami S. Quantifying the effect of Vpu on the promotion of HIV-1 replication in the humanized mouse model. Retrovirology. 13: 23 (2016) doi: 10.1186/s12977-016-0252-2.
4. Ito H, Sasaki A. Evolutionary branching under multi-dimensional evolutionary constraints. J. Theor. Biol. 407: 409-428 (2016) doi: 10.1016/j.jtbi.2016.07.011
5. Kaito C, Dieckmann U, Sasaki A, Takasu F. Beyond pairs: Definition and interpretation of third-order structure in spatial point patterns. J. Theor. Biol. 372: 22-38 (2016) doi: 10.1016/j.jtbi.2015.02.004
6. Yamada E, Yoshikawa R, Nakano Y, Misawa N, Kobayashi T, Ren F, Izumi T, Miyazawa T, Koyanagi Y, Sato K. A naturally occurring bovine APOBEC3 confers resistance to bovine lentiviruses: implication for the co-evolution of bovids and their lentiviruses. Sci. Rep. 6:33988 (2016) doi: 10.1038/srep33988.
7. Iwami S, Takeuchi JS, Nakaoka S, Mammano F, Clavel F, Inaba H, Kobayashi T, Misawa N, Aihara K, Koyanagi Y, Sato K. Cell-to-cell infection by HIV contributes over half of virus infection. eLife 4: e08150 (2015) doi: 10.7554/eLife.08150.
8. Iwami S, Sato K, Morita S, Inaba H, Kobayashi T, Takeuchi JS, Kimura Y, Misawa N, Ren F, Iwasa Y, Aihara K, Koyanagi Y. Pandemic HIV-1 Vpu overcomes intrinsic herd immunity mediated by tetherin. Sci. Rep. 5: 12256 (2015) doi: 10.1038/srep12256.
9. Takeuchi JS, Ren F, Yoshikawa R, Yamada E, Nakano Y, Kobayashi T, Matsuda K, Izumi T, Misawa N, Shintaku Y, Wetzel KS, Collman RG, Tanaka H, Hirsch VM, Koyanagi Y, Sato K. Coevolutionary

- dynamics between tribe Cercopithecini tetherins and their lentiviruses. *Sci. Rep.* 5:16021 (2015). doi: 10.1038/srep16021
10. Yamamichi M, Yoshida T, Sasaki A. Timing and propagule size of invasion determine its success by a time-varying threshold of demographic regime shift. *Ecology*: 95: 2303-2315 (2014). doi:10.1890/13-1527.
 11. Yashima K, Sasaki A. Epidemic process over the commute network in a metropolitan area. *PLoS ONE* 9: e98518 (2014) doi: 10.1371/journal.pone.0098518
 12. Mpolya MA, Yashima K, Ohtsuki H, Sasaki A. Epidemic dynamics of a vector-borne disease on a villages-to-city star network with commuters. *J. Theor. Biol.* 343: 120-126 (2014) doi: 10.1016/j.jtbi.2013.11.024
 13. Kobayashi T, Takeuchi JS, Ren F, Matsuda K, Sato K, Kimura Y, Misawa N, Yoshikawa R, Nakano Y, Yamada E, Tanaka H, Hirsch VM, Koyanagi Y. Characterization of red-capped mangabey tetherin: implication for the co-evolution of primates and their lentiviruses. *Sci. Rep.* 4:5529 (2014) doi: 10.1038/srep05529.
 14. Ikeda H, de Boer RJ, Sato K, Morita S, Misawa N, Koyanagi Y, Aihara K, Iwami S. Improving the estimation of the death rate of infected cells from time course data during the acute phase of virus infections: application to acute HIV-1 infection in a humanized mouse model. *Theor. Biol. Med. Model.* 11: 22 (2014) doi: 10.1186/1742-4682-11-22.
 15. Kobayashi T, Koizumi Y, Takeuchi J, Misawa N, Kimura Y, Morita S, Aihara K, Koyanagi Y, Iwami S, Sato K. Quantification of deaminase activity-dependent and -independent restriction of HIV-1 replication mediated by APOBEC3F and APOBEC3G through experimental-mathematical investigation. *J. Virol.* 88: 5881-5887 (2014) doi: 10.1128/JVI.00062-14.
 16. Sato K, Takeuchi SJ, Misawa N, Izumi T, Kobayashi T, Kimura Y, Iwami S, Takaori-Kondo A, Hu WS, Aihara K, Ito M, An DS, Pathak VK, Koyanagi Y. APOBEC3D and APOBEC3F potently promote HIV-1 diversification and evolution in humanized mouse model. *PLoS Pathog.* 10: e1004453 (2014). doi: 10.1371/journal.ppat.1004453.
 17. Leimar O, Sasaki A, Doebeli M, Dieckmann U. Limiting similarity, species packing, and the shape of competition kernels. *J. Theor. Biol.* 339: 3-13 (2013) doi: 10.1016/j.jtbi.2013.08.005
 18. Omori R, Sasaki A. Timing of the emergence of new successful viral strains in seasonal influenza. *J. Theor. Biol.* 329: 32-38 (2013) doi: 10.1016/j.jtbi.2013.03.027
 19. Yamamichi M, Sasaki A. Single-gene speciation with pleiotropy: Effects of allele dominance, population size, and delayed inheritance. *Evolution* 67: 2011-2023 (2013) doi: 10.1111/evo.12068
 20. Fukuhara M, Iwami S, Sato K, Nishimura Y, Shimizu H, Aihara K, Koyanagi Y. Quantification of the dynamics of enterovirus 71 infection by experimental-mathematical investigation. *J. Virol.* 87: 701-705 (2013) doi: 10.1128/JVI.01453-12.
 21. Sato, K, Misawa N, Iwami S, Satou Y, Matsuoka M, Ishizaka Y, Ito M, Aihara K, An DS, Koyanagi Y. HIV-1 Vpr accelerates viral replication during acute infection by exploitation of proliferating CD4+ T cells in vivo. *PLoS Pathog.* 9: e1003812 (2013). doi: 10.1371/journal.ppat.1003812.
 22. Sasaki A, Haraguchi Y, Yoshida H. Estimating the risk of re-emergence after stopping polio vaccination. *Frontiers in Microbiology* 3: 178 (2012) doi: 10.3389/fmicb.2012.00178
 23. Fukuyo M, Sasaki A, Kobayashi I. Success of a suicidal defense strategy against infection in a structured habitat. *Sci. Rep.* 2: 238 (2012) doi: 10.1038/srep00238
- 〔図書〕(計6件)
1. 佐々木顕 . ヒトのインフルエンザ . 「感染症の生態学」(pp286-296) . 共立出版 , 2016
 2. 加茂将史・佐々木顕 . 病原生物と宿主の進化 . 「感染症の生態学」(pp132-156) . 共立出版 , 2016
 3. Koyanagi Y, Selective infection of CD4+ memory T cells in “Humanized mice for HIV research” Poluektova L, Garcia-Martinez V, Koyanagi Y, Manz M, Tager A, ed. Springer, 2015.
 4. 佐々木顕 . 伝染病と流行 . 「計算と社会」(pp123-169) . 岩波書店 , 2012
- 〔学会発表〕(計25件)
1. Sasaki A, The coevolution of human antiviral protein APOBEC3G and HIV

- protein Vif. Symposium "Mathematical modeling for emerging infectious diseases." Joint Meeting of The 5th China-Japan-Korea Colloquium on Mathematical Biology and The Japanese Society for Mathematical Biology, Doshisha University, Kyoto, Japan, August 26-29, 2015. [口頭発表]
2. Sato K, Misawa N, Takeuchi JS, Kobayashi T, Yamada E, Nakano Y, Yoshikawa R, Koyanagi Y. Gain-of-function evolution of SIVcpz in humanized mouse model. Cold Spring Harbor Retrovirus meeting, New York, USA, May 26, 2016. [ポスター発表]
 3. Koyanagi Y, Sato K. Evolution of HIV-1 from SIVcpz in an Experimental Model. 2nd International Symposium on "Molecular Basis of Virus-Host Interactions". Sapporo, October 22, 2016. [口頭発表]
 4. Koyanagi Y. Virus researches using humanized mice. 64th Annual Meeting of the Japanese Society for Virology, Sapporo, October 25, 2016. [口頭発表]
 5. Koyanagi Y, Is HIV-1 persistent OR/AND latent in vivo? 第30回日本エイズ学会学術集会・総会, 鹿児島, 2016年11月24日. [口頭発表]
 6. Sasaki A, Coevolutionary dynamics of human antiviral protein APOBEC3G and its viral antagonist Vif. Symposium "Dynamic interplay between viruses and their hosts", Pacifico Yokohama, Yokohama, November 8-9, 2014. [口頭発表]
 7. Sasaki A, The coevolution of human antiviral protein APOBEC3G and HIV protein Vif: A theoretical study. The 11th Conference of European Society for Mathematical and Theoretical Biology (ESMTB 2014), Gothenburg, Sweden, June 15-19, 2014. [口頭発表]
 8. Sasaki A, Projecting evolutionary trajectory of influenza A virus: Multidimensional scaling and individual based antigenic drift model. Tsukuba Global Science Week 2013: International Life Science Workshop -- Systems Biology, Tsukuba University, Tsukuba, October 3, 2013. [口頭発表]

[その他]

ホームページ等

<http://www.virus.kyoto-u.ac.jp/Lab/KoyanagiHP/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

佐々木 顕 (SASAKI, Akira) 総合研究大学院大学・先導科学研究科・教授

研究者番号 : 90211937

(2) 研究分担者

小柳義夫 (KOYANAGI, Yoshio) 京都大学・ウイルス・再生医科学研究所・教授

研究者番号 : 80215417

(3) 連携研究者

()

研究者番号 :

(4) 研究協力者

()