

研 究 報 告 書

「病原体抗原型と宿主免疫の共進化動態の解明・将来流行予測」

研究期間：平成19年10月～平成23年3月

研究者：佐々木 顕

1. 研究のねらい

インフルエンザウイルス、AIDS ウイルスなど急速に進化する病原体は、ワクチンや薬剤に対する抵抗性を急速に進化させ、また宿主免疫の攻撃目標となるエピトープを変えることによって、ワクチン接種や自然免疫からエスケープする。表面抗原の特定の領域のアミノ酸配列で定義されるエピトープは、宿主免疫系との強い相互作用による頻度依存淘汰を受け、多次元配列空間のなかを「予測不可能な」軌跡を描いて進化し、また系統樹上の新しい枝が分岐し、多様化する。このような病原体の表現型(抗原型)と配列の進化を取り扱うための数学的理論の確立を目指した。

2. 研究成果

(1) インフルエンザの抗原連続変異: 不連続進化とスリムな系統樹

1968-2009 のインフルエンザ A 香港型の表面抗原の表現型(その違いは免疫的距離で定義される)は、進化停滞期と飛躍期が繰り返す断続平衡的な進化を示す。このような不連続的な進化がどのようなメカニズムで起こるかを、ウイルスの抗原変異株の流行とそれに伴う宿主免疫構造の変化を結合させた動態モデルで解析した。交差免疫の幅とウイルスの突然変異の幅の比が閾値より小さいと、ウイルス集団の抗原変異の分布は、一次元抗原型空間上の孤立進行波として一定速度で進化し、宿主免疫系が同じ速度でそれを追う。一方、交叉免疫幅と突然変異幅の比が閾値を超えると断続平衡的進化が起きる。これは、あるウイルス株が大流行すると、宿主集団の獲得免疫が免疫学的に近い変異株の増殖も抑え、十分な数の突然変異が蓄積するまで進化が停滞するためである。

インフルエンザ A 型ウイルスの表面抗原は、宿主免疫から逃れる変異体を有利にする頻度依存淘汰に駆動され、急速に進化する。この少数者有利の淘汰は、ウイルスの遺伝的多様性も促進するはずだが、その系統樹形は枝分かれの少ない直線状(サボテン型)に保たれている。このインフルエンザのシンプルな系統樹形の謎を解明するために、抗原決定座位に毎年定常的に変異が固定する単純な抗原連続変異モデルで、系統樹が枝分かれする条件を解析的に求めた。次に、詳細モデルとして、ウイルスの抗原決定座位配列で定義される遺伝子型と10万人規模の宿主個体の感染履歴の全てを追跡する、個体ベース共進化シミュレーターを開発した。この単純モデルと複雑モデルの双方の解析により、高速に進化し、かつ系統樹形が直線状に保たれるインフルエンザ A 型の進化パターンが維持されるためには、感染の季節性と宿主一般免疫による先住者効果(シーズン初期の流行が、後発の系統の侵入を抑制する効果)が最も重要であることが分かった(図1)。

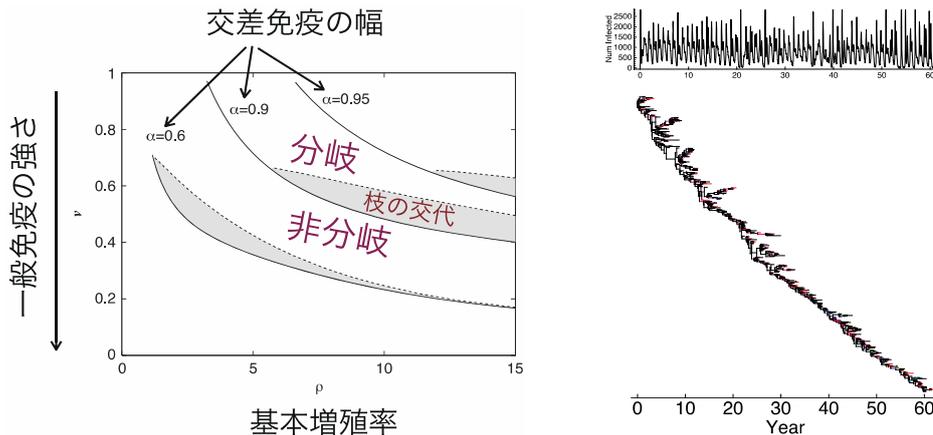


図1 インフルエンザ抗原連続変異モデルの相図。系統樹の分岐は非特異的免疫が強いとき抑制される(曲線の下「非分岐」領域)。交叉免疫の幅が広いほど(α が大きいほど)直線的樹形の領域は広がる(左)。個体ベース抗原連続変異シミュレーションで再現された長期にわたる抗原連続変異と直線的な系統樹(右)。

(2) 次に流行する系統はいつ出現するか？

あるエピトープをもつ系統(親系統)が宿主集団に出現し、流行がピークを迎え終息するまでのさまざまな時期に出現する突然変異体の定着確率を、突然変異体に感染した個体数に関する出生死亡過程として定式化した。親系統の流行に伴い、宿主免疫構造が変化するので、突然変異体の出生率・死亡率は時間依存する。定着確率に関する時間依存の「後ろ向き方程式」を解くことにより、親系統の流行の初期に生じた突然変異体の定着率が、流行中期・後期に生じた系統よりもずっと高いこと、つまり、突然変異体のなかで次の流行を担う系統は前年の流行のごく初期に生じたものに強く偏ることが解析的に明らかになった(図2)。感染力の季節性も考慮すると、春先に流行した系統から、その後のシーズンの流行を起こす系統が出現しやすいことも分かった。

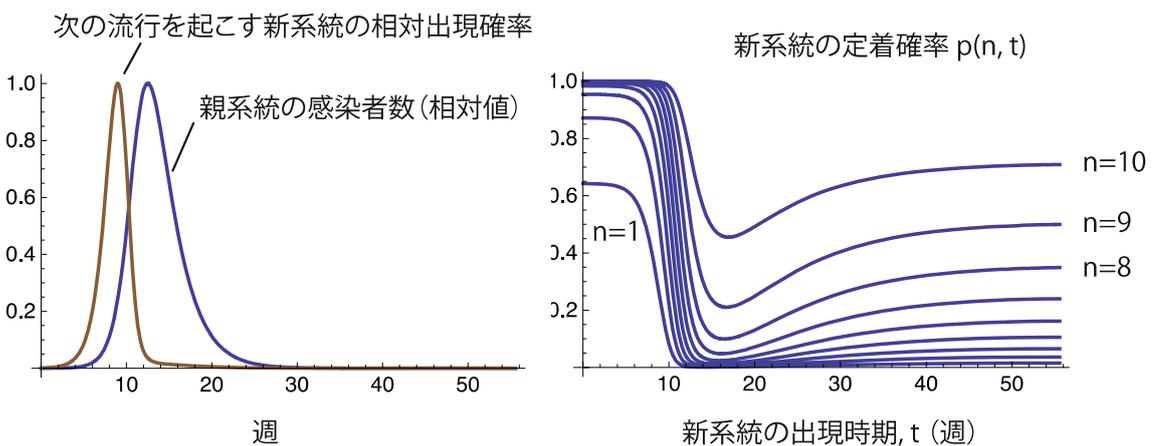


図2 親系統の流行曲線と、次の流行を担う新系統が出現する時期の確率分布(左)、新系統の定着確率 $p(n, t)$ の出現時期 t 依存性 (n は初期感染者数)(右)。基本増殖率は3、親系統に感染し回復した個体が、その子孫系統に感染する場合の基本増殖率は、交叉免疫によって20%に減少する場合。

(3) 多次元尺度法によるインフルエンザ抗原進化予測

ヘマグルチニンの抗原決定座位(エピトープ)配列の進化を、宿主集団の免疫応答とカップルさせた抗原連続変異(antigenic drift)個体ベースモデルでシミュレートした結果に、多次元

尺度法を適用することにより超多次元配列空間上の進化軌道が2～3次元空間上の軌道として再現できることを確認し、この進化軌道をもとに、過去の流行型のデータから次年度の抗原型を予測する理論の構築が可能であることを見いだした。

具体的には、過去40年間のA香港型(H3N2)ヘマグルチニンHA1領域のアミノ酸配列進化データ(DDBJ、2500配列)と、ウイルス抗原連続変異のシミュレーション結果の両方に、多次元尺度法を適用することにより、以下の結果を得た(図3)：

1. ウイルス抗原配列空間と宿主免疫状態の極めて高い次元性に関わらず、5～10年の直線的な進化トレンドを2～3次元の主座標空間で抽出できる。
2. 主座標空間上で進化軌道の方向が変わる時期は、ウイルスの系統樹上で主要なクレードが分岐する時期に対応する。
3. A香港型のアミノ酸配列進化に多次元尺度法を適用すると、1990年代初頭に主座標空間上の大きな方向転換が起こり、これは系統樹上でのクレード分岐に対応する。

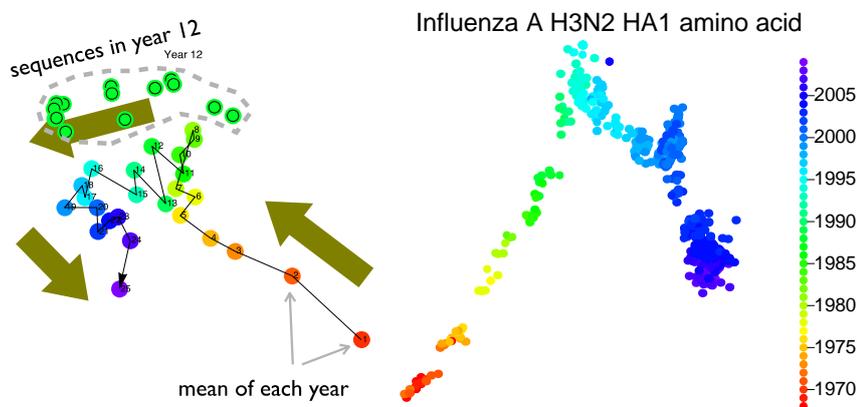


図3 個体ベース抗原連続変異シミュレーション結果に多次元尺度法を適用した結果(左)。部分的な直線トレンドと方向転換が見える。インフルエンザA香港型ヘマグルチニンアミノ酸配列から作成した多次元尺度法マップ(右)。1990年代の方向転換は系統樹のクレード交代に対応する。

(4) 口蹄疫農場ベースモデル

2010年宮崎県における口蹄疫流行に関して、農場ベース疫学モデルを適用し、流行の解析と予測をもとに有効な対策を提言するための研究を行った。OIE(国際獣疫事務局)に報告された感染農場基礎データから流行の時系列と空間的な伝播のデータを抽出し、農場を単位とする伝染病モデルを作成した。モデルを用いてパラメータの最尤推定や、今後の流行予測を行った。牛と豚の感受性、感染性のパラメータや農場間距離に対する感染力低減率などの基礎パラメータは、2001年の英国口蹄疫流行時に推定されたパラメータと驚くべき一致を示した。一方、農場の飼育頭数と農場の感受性、感染力との関係について、従来の農場ベースモデルはそれぞれが飼育頭数に比例するとしてきたが、飼育頭数に対する頭打ちの効果を入れると、尤度が大きく上昇することも分かった。未感染農場に関する流行の確率予測(リスクプロファイル)と、感染農場のまわりの環状農場処理など個々の対策の有効性を数量的に評価することが可能になった(図4)。

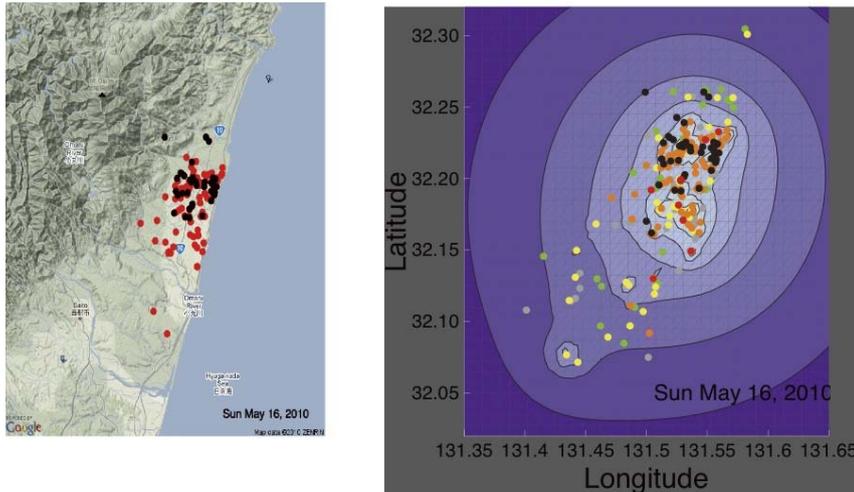


図4 2010年5月16日の宮崎県の口蹄疫感染農場(赤)と処理済み農場(黒)のデータ(左)。農場ベースモデルとパラメータの最尤推定値に基づく5月16日の感染リスクプロファイル(右)。

3. 今後の展開

インフルエンザに関しては、多次元尺度法によって低減した空間上の進化予測から、次年度流行型のアミノ酸配列への逆写像を行うステップを完成させることにより、翌年流行するウイルス株のヘマグルチニンアミノ酸配列予測を可能にする理論としての完成を目指す。

口蹄疫に関しては、今回の数理モデルベースの解析の有効性を国際学術誌や省庁でのセミナー等で訴えていく。また、数理モデルをベースにした政策提言の道を開くため、厚生労働省、農林水産省の行政担当者の協力を得て、農場の規模と位置情報、農場間の交通流動のデータベースの整備と、数理モデルとの統合を行う。

4. 自己評価

研究開始当初の目標は、抗原性の異なるインフルエンザウイルス系統と宿主免疫系の相互作用の動態をもとに、インフルエンザウイルスの進化予測を行い、翌年の流行型を予測することであった。インフルエンザウイルスの主要抗原は表面糖タンパク質のヘマグルチニンであるが、そのヘマグルチニンを構成するアミノ酸のうち、50～100におよぶ残基が抗原型の決定に寄与しているため、アミノ酸配列の組み合わせ可能性は膨大な数にわたる。また、それぞれの抗原型に感染することで獲得される特異的免疫が、多少異なる抗原型をも押さえる「交差免疫」の程度がアミノ酸配列間の差異によってどう決まるかも推定は難しい。このふたつの困難により、インフルエンザウイルスの進化予測は極めて難しい課題であった。ここに数理モデルを導入することで、予測を可能にするために、どのような理論体系を整備すればよいか次第に明らかになった。

まず、着目したのはインフルエンザ A ウイルスの系統樹の単純性であった。免疫系から逃れることが有利になるため、新しい変異が次々と固定し、急速に進化をするインフルエンザウイルスが、なぜ単純な系統樹をもつのかは大きな謎であったが、そのメカニズムを理論的に解明することができた。また、系統樹の単純性が下に記述する進化軌道の低次元性の根拠となり、将来進化予測を可能にすることに気づいた。

Smithらが2004年に始めた、インフルエンザ系統間の遺伝的距離関係を低次元空間で再表現する試み(多次元尺度法)は、インフルエンザウイルスの進化軌道が本質的に低次元であってはじめて可能になるものである。これは、本課題で作成したウイルス抗原型進化の宿主個体ベースシミュレーターの試行結果に多次元尺度法を適用することにより明らかになったことである。また進化軌道の直線性と方向転換が、宿主免疫系・ウイルス抗原型共進化において何に対応するのかも明らかになった。

これらの発見をもとにインフルエンザウイルスの過去のアミノ酸配列データを低次元の空間に投影して進化軌道を予測し、その予測域をアミノ酸配列に逆写像することにより、次年度流行するインフルエンザ株のアミノ酸配列を予測する理論的可能性が開かれたと考える。プロジェクトはまだ未完であるが、本課題で得られた様々な結果が国際誌等に公表され、データ解析グループとの共同研究が進むことにより、理論にもとづく進化・流行予測とワクチン政策が現実のものになると考えている。

5. 研究総括の見解

インフルエンザウイルスの抗原型が飛躍期と停滞期を繰り返す断続平衡的な進化を示すことに注目し、そのメカニズムを数理モデルを用いて解明すると同時に、インフルエンザの流行予測を可能にする斬新な手法を提案する事をめざした非常に挑戦的でスケールの大きい研究課題に取り組んだ。流行中に出現したウイルス変異株のうち次年度に受け継がれる系統を解析的に予測する数理モデル、10万人規模の宿主個体の感染履歴を追跡する個体ベースモデル、そして、統計的手法である多次元尺度法を用いた流行予測など、様々な解析手法を開発し、応用性の高い数学理論を構築したことは高く評価される。

また、研究期間中に発生して急遽対応した宮崎県の口蹄疫の問題では、数理モデル研究が病原体流行予測や予防にとって非常に重要な武器となりうることを如実に示した。これらの実績から、理論的側面から政策に提言できる人材として今後大いに期待される。

6. 主要な研究成果リスト

(1) 論文(原著論文)発表

1. Suzuki S, Sasaki A, How does the resistance threshold in spatially explicit epidemic dynamics depend on the basic reproductive ratio and spatial correlation of crop genotypes? <i>Journal of Theoretical Biology</i> 276: 117-125 (2011)
2. Nakabayashi J, Sasaki A, A mathematical model of the intracellular replication and within host evolution of hepatitis type B virus: Understanding the long time course of the chronic hepatitis, <i>Journal of Theoretical Biology</i> , 269: 318-29 (2011)
3. Omori R, Adams B, Sasaki A, Coexistence conditions for strains of influenza with immune cross-reaction, <i>Journal of Theoretical Biology</i> 262: 48-57 (2010)
4. Sasaki A, Dieckmann U, Oligomorphic dynamics for analyzing the quantitative genetics of adaptive speciation, <i>Journal of Mathematical Biology</i> (Online First, 19 November 2010)
5. Adams B, Sasaki A, Antigenic distance and cross-immunity, invasibility and coexistence of pathogen strains in an epidemiological model with discrete antigenic space, <i>Theoretical Population Biology</i> 76: 157-167 (2009)
6. Nakabayashi J, Sasaki A, The function of temporally ordered viral gene expression in the intracellular replication of herpes simplex virus type 1 (HSV-1), <i>Journal of Theoretical Biology</i> 261: 156-164 (2009)
7. Yahara K, Fukuyo M, Sasaki A, Kobayashi I, Evolutionary maintenance of selfish homing endonuclease genes in the absence of horizontal transfer, <i>Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America</i> 106: 18861-18866 (2009)

(2) 特許出願

研究期間累積件数: 0 件

(3) その他(主要な学会発表、受賞、著作物等)

招待講演など

1. Akira Sasaki, "Theory of Species Packing", Winter school on eco-evolutionary modeling of speciation, Abisko, Sweden, March 7-11, 2011(集中講義)
2. Akira Sasaki, "Forecasting host-parasite arms races: models and time-series data", MMEMS Network EPSRC Workshop Coevolution: Models and microbial model system, 2010 April 14-15, Liverpool, UK. (招待講演)
3. Akira Sasaki, "Emergence probability of new flu escape variants: Be aware of early stage mutants and of spring outbreak", BICS Conference Multiply Structured Populations in Biology, University of Bath, Bath, UK, July 1, 2009 (招待講演)

著書

1. 佐々木顕, 軍拡競争・共進化・種分化, 「行動・進化」の数理生物学、日本数理生物学会編, pp129-151, 共立出版 (2010)
2. 佐々木顕, 毒性の進化と「小さな世界」, ネットワーク科学への招待(青山秀明・相馬亘・藤原義久編), pp 50-55, サイエンス社 (2008)
3. 佐々木顕, 病原体の進化と疫学動態, 感染症の数理モデル(稲葉寿編), pp 268-304, 培風館 (2008)