

Title	胎児期・成体の心筋細胞における収縮機構のモデリングとシミュレーション
Sub Title	
Author	瀧口, 真央(Takiguchi, Mao)
Publisher	慶應義塾大学湘南藤沢学会
Publication year	2015
Jtitle	生命と情報 No.22 (2015.) ,p.57- 74
JaLC DOI	
Abstract	<p>齧歯類の発生過程において、心臓は劇的な形態変化を経る。心臓を構成する心筋細胞ではイオンチャンネルや交換体の量的変化はもちろん、胎児と成体では異なるアイソフォームが使われて質的な変化が報告されている。心筋細胞の収縮に関わるタンパク質のアイソフォームの変化は、筋収縮時のATPase活性や筋収縮の速度や収縮力に変化を及ぼし、トロポニンIにおいてはCa²⁺の感受性に差を生じさせることが報告されている。本研究では、発生過程による収縮関連タンパク質のアイソフォームの変化が胎児期から新生仔期、そして成体の心臓において、Ca²⁺の感受性や収縮速度、収縮に必要なエネルギー消費に影響を及ぼすことに着目し、包括的な検討を行うための数理モデルを構築した。胎児期と成体での収縮機構の比較を行なうため、発生過程上典型的な4段階(胎生初期・後期、新生仔期、成体)の膜興奮を再現することが可能なKuzumotoらの包括的心筋細胞モデル(Kyoto model)にアイソフォームの違いを表現可能なNiedererらの収縮モデルを統合した。収縮関連タンパク質の違いを表現する事により、成長過程における膜興奮にくわえ、収縮力の定量的評価が可能となった。また、心筋細胞一拍動あたりのATP消費量が算出できるようになった。先行研究を含めて、胎児期の心筋細胞での膜興奮や収縮機構のシミュレーションが可能になることは、胎児期の低酸素状態への耐性メカニズムの推測に繋がることや、成体の心臓に酸素の供給がうまく行かなくなった時に少しでも長く生存するための手がかりとなると考える。また、心肥大などの疾病は胎児期に発現していたアイソフォームを再発現する事が知られており、これらの疾病の研究に本研究で構築したモデルを応用可能であると考え。</p>
Notes	慶應義塾大学湘南藤沢キャンパス先端生命科学研究会 2015年度学生論文集 修士論文ダイジェスト
Genre	Technical Report
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=KO92001004-00000022-0057

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the Keio Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

2015 年修士論文ダイジェスト

胎児期・成体の心室筋細胞における収縮機構の モデリングとシミュレーション

慶應義塾大学大学院 政策・メディア研究科

瀧口 真央

要旨

齧歯類の発生過程において、心臓は劇的な形態変化を経る。心臓を構成する心筋細胞ではイオンチャンネルや交換体の量的変化はもちろん、胎児と成体では異なるアイソフォームが使われて質的な変化が報告されている。心筋細胞の収縮に関わるタンパク質のアイソフォームの変化は、筋収縮時の ATPase 活性や筋収縮の速度や収縮力に変化を及ぼし、トロポニン I においては Ca^{2+} の感受性に差を生じさせることが報告されている。本研究では、発生過程による収縮関連タンパク質のアイソフォームの変化が胎児期から新生仔期、そして成体の心臓において、 Ca^{2+} の感受性や収縮速度、収縮に必要なエネルギー消費に影響を及ぼすことに着目し、包括的な検討を行うための数理モデルを構築した。胎児期と成体での収縮機構の比較を行なうため、発生過程上

典型的な4段階(胎生初期・後期, 新生仔期, 成体)の膜興奮を再現することが可能な Kuzumoto らの包括的心筋細胞モデル (Kyoto model) にアイソフォームの違いを表現可能な Niederer らの収縮モデルを統合した。収縮関連タンパク質の違いを表現する事により, 成長過程における膜興奮にくわえ, 収縮力の定量的評価が可能となった。また, 心筋細胞一拍動あたりの ATP 消費量が算出できるようになった。先行研究を含めて, 胎児期の心筋細胞での膜興奮や収縮機構のシミュレーションが可能になることは, 胎児期の低酸素状態への耐性メカニズムの推測に繋がることや, 成体の心臓に酸素の供給がうまく行かなくなった時に少しでも長く生存するための手がかりとなると考える。また, 心肥大などの疾病は胎児期に発現していたアイソフォームを再発現する事が知られており, これらの疾病の研究に本研究で構築したモデルを応用可能であると考える。

キーワード

心筋細胞, 筋収縮, 収縮関連タンパク質, 発生, 細胞シミュレーション

第1章 序論

1.1 心臓のしくみと収縮のメカニズム

心臓は、個体の生死を分ける重要な臓器である。全身に血液を送るポンプの役割を果たしており、心臓が拍動することで全身に血液を巡らせる。そのサイクルは収縮と弛緩の繰り返しで生じる。心筋細胞の筋収縮は、図 1A のように活動電位を受けて細胞膜内に Ca^{2+} が流入すると、その Ca^{2+} がトリガーとなって起きる。この流れが、順番に起きている(図 1B)。

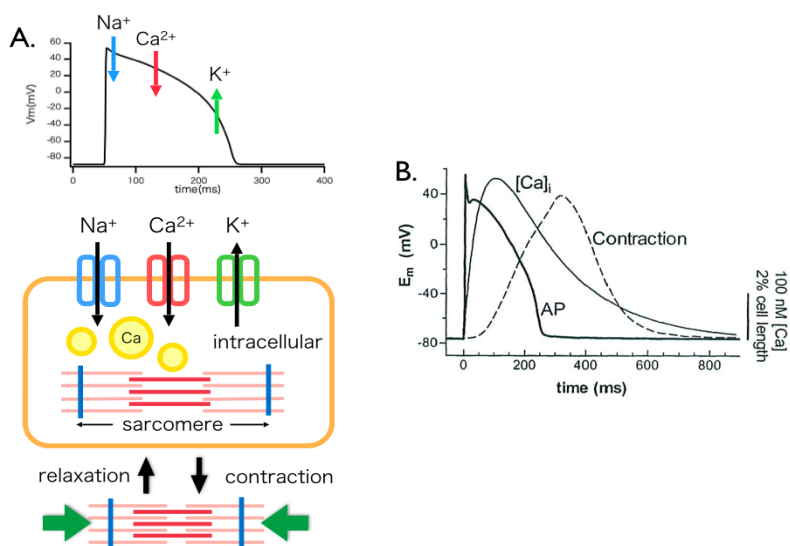


図 1. 筋収縮が起こるまでのメカニズム

A. 筋収縮が起こるまでのメカニズムの模式図

B. ウサギの心室筋細胞の活動電位 (Action Potential: AP)の発生と細胞内 Ca^{2+} 濃度と収縮の関係 [3]

心筋の収縮は、心筋細胞の基本単位であるサルコメアに交互に配列するミオシンフィラメントと呼ばれる太いフィラメントと、アクチンフィラメントと呼ばれる細いフィラメントがクロスブリッジを形成し、ATP をエネルギー源として滑走することによって起こる (図 2)。クロスブリッジと呼ばれる架橋構造は、ミオシン重鎖 (Myosin heavy chain: MHC) がアクチンフィラメントに結合することで出来る。収縮時に、トロポニン C (Troponin C: TnC) に筋小胞体から放出された Ca^{2+} が結合することで、トロポニン複合体とトロポミオシンに偏位が生じ、アクチン表

面に MHC の結合可能な空間が生まれることで生じる。弛緩時は、 Ca^{2+} の解離と同時にトロポミオシンに制御され、クロスブリッジは形成出来ない状態となっている [17]。筋収縮には、MHC やミオシン軽鎖 (Myosin light chain: MLC) から構成されるミオシンフィラメント、トロポニン複合体 (TnC, トロポニン I (Troponin I: TnI), トロポニン T (Troponin T: TnT)) やトロポミオシンから構成されるアクチンフィラメントの上に存在する収縮関連タンパクが作用する。

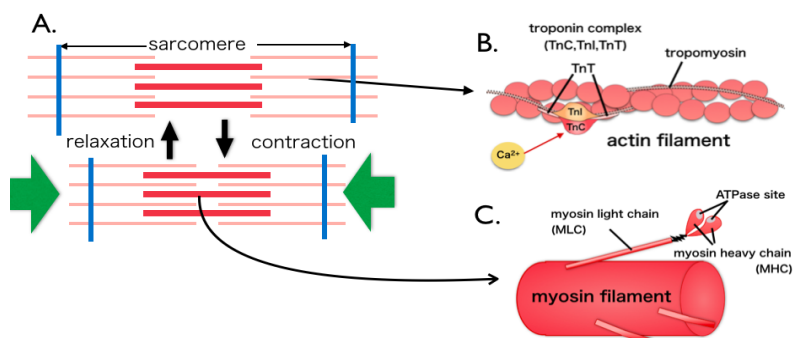


図 2. 筋肉の収縮・弛緩

A. サルコメア B. アクチンフィラメント C. ミオシンフィラメント

1.2 収縮関連タンパク質の発現量の違い

収縮関連タンパク質は、生物種、心筋細胞の部位、発生段階において、異なるアイソフォームを持ち、心臓の発生の段階で変化をすることが分かっている [8, 9, 10]。本研究で用いるモルモットの心室筋細胞の成長過程による収縮関連タンパク質のアイソフォームの発現量の違いを図 3 に示す。

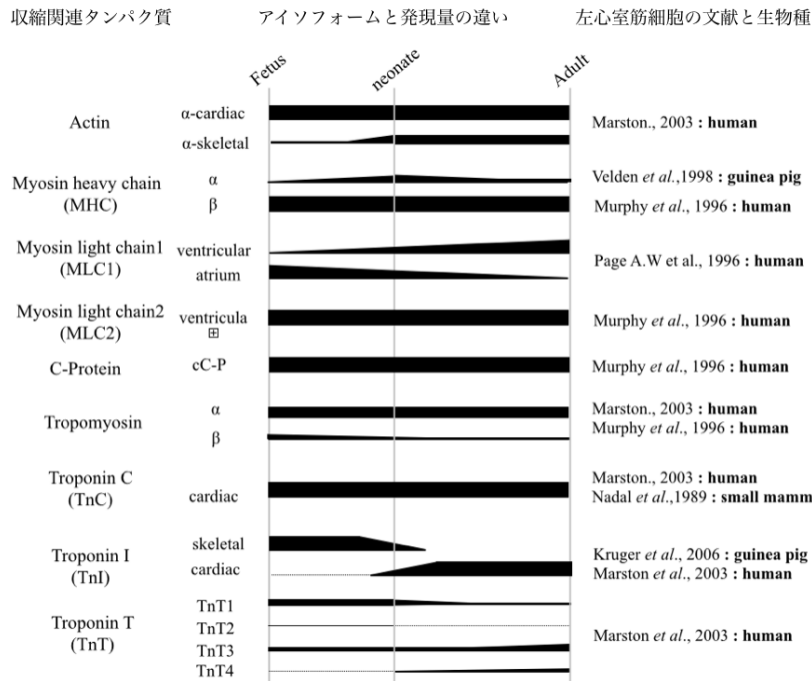


図 3. 心室筋細胞の収縮関連タンパク質のアイソフォームと発現量の発達変化

図 3 で示すように胎児期から成体への成長過程の段階で、いくつかの収縮関連タンパク質はアイソフォームを持ち、発現パターンに違いがある。既に分かっていることとして、これらのタンパク質の違いが、 Ca^{2+} 感受性、筋収縮の速度、筋収縮に使われる ATP 消費量の違いなど筋収縮に変化を起こす [10]。 Ca^{2+} 感受性には、TnI が関与し、収縮速度と ATP 消費には MHC が特に影響を与えるとされ、データも比較的多く存在する [8, 16]。しかし、タンパク質によっては、発現量の違いによる機能の変化が分からないものも存在する [10]。

また、収縮関連タンパク質が異なる性質を生むことも分かっており、胎児期に発現している収縮関連タンパク質が成体で再発現すると心臓病になると言われている [18]。

1.3 先行研究

先端生命科学研究会、E-Cell プロジェクトで行われてきた先行研究では、京都大学の細胞・生体機能シミュレーションプロジェクトによって開発された、モルモット心室筋細胞の活動電位とサルコメア長の時系列変化をコンピュータ上で再現できる包括的心筋細胞モデル (Kyoto model) が用いられてきた [7]。 Kyoto model は、ATP 産生系、 Ca^{2+} 結合タンパク質、筋収縮、細

胞膜電流系，筋小胞体で構成された細胞モデルである (図 4).

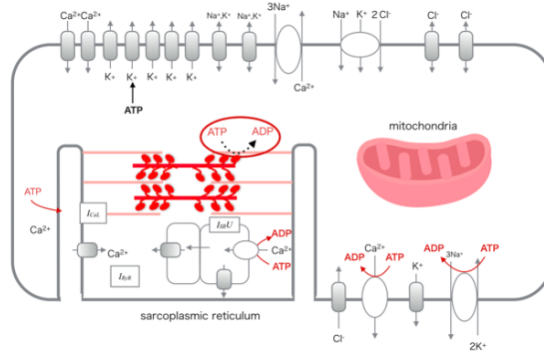


図 4. Kyoto model の模式図

また，先行研究で発生過程上典型的な 4 段階 (胎生初期・後期，新生仔期，成体) の膜興奮を再現する事が可能になっている [5] (表 1). しかし Kyoto model の筋収縮モデルである Negroni-Lascano model [12]においては，発生過程による収縮関連タンパク質の変化が考慮されておらず，胎児期の心筋細胞における収縮力の定量的な評価が出来ない (図 9). そのため，本研究では，収縮関連タンパク質のアイソフォームの性質の違いを再現可能なモデルの構築を行う。

表 1. 胎生後期 (LE) と成体 (V) の過程で相対的

に活性量の変更を

したチャンネル電流 [5, 13]

Ionic components	Late Embryonic	Adult
L-type Ca^{2+} channel	0.78	1.0
T-type Ca^{2+} channel	4.5	1.0
Delayed rectifier K^+ channel, rapid component	2.0	1.0
Delayed rectifier K^+ channel, slow component	0.01	1.0
Transient outward current	0.27	1.0
$\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ exchange current	1.74	1.0
ATP-sensitive K^+ current	0.88	1.0
RyR channel	0.40	1.0
SR Ca^{2+} pump	0.21	1.0
SR-related components	0.3	1.0
CICR factor	-60	-150

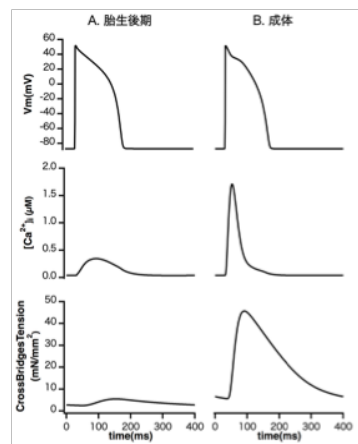


図 5. 表 1 の活性の値で胎生後期 (LE) と成体 (V) のシミュレーション

上から活動電位，細胞内 Ca^{2+} 濃度，収縮力を示すクロスブリッジにかかる張力。

1.4 研究目的

本研究の目的は、胎児期のモルモットの心室筋細胞の収縮機構のモデリングである。その理由は、Kyoto model に収縮力の定量性が必要であるためである。既に成長過程での膜興奮の再現が可能になっているが、その成長に合わせた収縮力の再現が行われていなかった。収縮力がモデルの出力の指標として用いられる事から、胎児期と成体の収縮関連タンパク質を含めた収縮力を再現出来るモデルを開発する事にした。本研究により、胎児期と成体の収縮機構の違いを考慮したモデルの統合が出来れば、膜興奮に伴う収縮力が成長段階で観察できるモデルになる。

また、本研究では議論していないが、本研究で開発したモデルを用いることで、アイソフォームの違いにより生じる心臓病の解決に向けた足がかりになることを期待している。

第2章 対象と手法

2.1 統合の対象となるモデル

前述した Kyoto model に加えて、本研究で多く用いられたモデルについて述べる。以降、[11] のモデルを Negroni-Lascano model, [12] のモデルを Niederer model (N model) と呼ぶ。[7] の Kyoto model と N model の統合モデルを KyotoN model と呼ぶ。

2.1.1 Negroni-Lascano model [11]

先行研究で述べた Kyoto model に採用されている収縮モデル、Negroni-Lascano model は、筋収縮を4遷移状態で表現している(図 6A)。トロポニンと Ca^{2+} が結合している状態 (TCa) と結合していない状態 (T)、およびアクチンフィラメントと MHC が結合出来るようになった事で相互作用が起きている状態 (TCa*), 相互作用が起きている状態 (T*) という4状態である。

Negroni-Lascano model で再現されている収縮関連タンパク質の数はトロポニンとクロスブリッジと少なく、収縮関連タンパク質の違いを再現することを目的とする本研究には適さないと考え、新たに図 6B の N model をあげた。

2.1.2 Niederer model (N model) [12]

Negrone-Lascano model と同様なパラメータを持つ事に加えて、MHC に結合可能なアクチンの領域の割合など、収縮関連タンパク質としての作用が再現しやすいパラメータが存在する。生物種や収縮関連タンパク質の実験データを豊富に用いた上で議論がされたモデルであった。また [15] のモデルの収縮モデルとして統合された経験があるモデルである。Kyoto model で採用されている Negrone-Lascano model と同様に細胞内 Ca^{2+} 濃度と収縮力が入力と出力で用いられているため、Kyoto model との統合も可能である。

Kyoto model に N model を統合する事で、収縮関連タンパク質の違いの再現可能な詳細化されたモデルの構築をした。

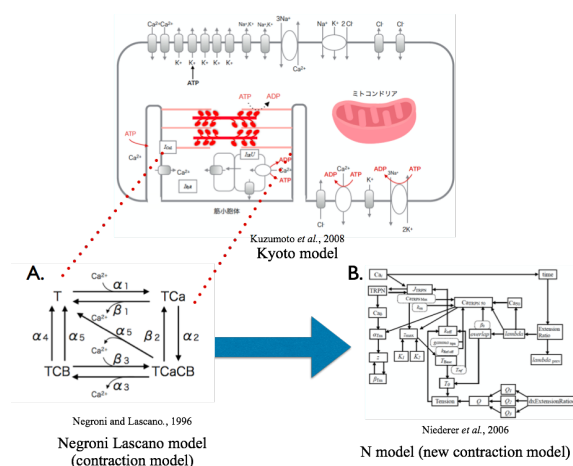


図 6. モデル構築に向けた流れ

Kyoto model とその収縮モデル A の Negrone-Lascano model と、新たに Kyoto model に統合を行った収縮モデル B の N model.

2.2 モデルのシミュレーション方法

シミュレーターとして、汎用細胞シミュレーション環境 E-Cell Simulation Environment (SE) version 3 [14] と OpenCell を使用した。600 秒間無刺激の状態ですべてのシミュレーションを行った後に、 -8000 pA の刺激を加えて 600 秒のシミュレーションを行った。そして、同様の刺激を加えた状

態で行う 1000 ms を記録して観察している。刺激頻度は、1.0 Hz (1000 ms に 1 回)、2.5 Hz (400 ms に 1 回) のシミュレーションを行った。モデルによる依存性や刺激を入れてから定常な状態に入ってから挙動を観察をしたいため、600 秒と長い時間をもうけてシミュレーションを行っている。

2.3 モデルの統合と胎児期モデルの構築

2.3.1 Kyoto model と N model の統合

Kyoto model (E-Cell Model description Language (EML) 形式)、N model (XML 形式) で形式が異なるため、N model を E-Cell System 上で再現出来るよう XML 形式から EML 形式へと変換し、統合を行った。Kyoto model 内での Ca と N model の Ca_i というパラメータは、いずれも細胞内遊離 Ca^{2+} 濃度を示しているため、N model の Ca_i に Kyoto model の Ca を参照する事で、Kyoto model と N model の結合を行なった。

2.3.2 実験データに基づいた胎児期モデルの構築

KyotoN model の統合により成体モデルが構築出来たため、実験データ [1] に基づき胎児期モデルの構築を行った。成長過程におけるモルモットの左心室筋細胞の収縮力のデータを入手する事が出来なかったため、ここで扱うデータはモルモットの右心室筋細胞の成長過程における収縮力を測定した実験データ [1] である。胎児期と成体の収縮の違いを収縮波形のピーク (収縮力) と、それに達するまでの時間で再現した。ここで用いたパラメータは、TnI のアイソフォームの違いで生じる Ca^{2+} 感受性の変更と、胎児期モデルの再現性に富んだ MHC の結合可能なアクチンの領域の割合のパラメータを用いた。

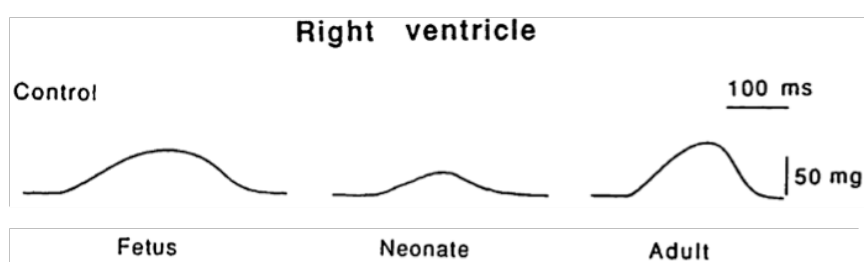


図 7. 胎児期と成体の右心室筋細胞の収縮力の違い [1]

TnI のアイソフォームに関連するトロポニンの反応速度式 (1) の中で細胞内 Ca^{2+} 濃度に係数 k_{TRPN} を置き, Ca^{2+} 感受性を変更した.

$$J_{\text{TRPN}} = (\text{Ca}_{\text{TRPN Max}} - \text{TRPN}) \cdot k_{\text{off}} - (\text{Ca}_i \cdot k_{\text{TRPN}} \cdot \text{TRPN} \cdot k_{\text{on}}) \dots (1)$$

アクチンとミオシンの滑り(収縮) に直に関与する, MHC の結合する可能なアクチンの領域の割合 (the fraction of actin sites available) を示す z (the fraction of actin site available) の式 (2) に係数 k_z を置き, 収縮の速度の変更をした.

$$\frac{dz_t}{dt} = (\alpha_{\text{Tm}} \cdot (1 - z_{t-1}) - \beta_{\text{Tm}} \cdot z_{t-1}) \cdot k_z \dots (2)$$

2.3.3 筋収縮時の ATP 消費量の考慮

一拍動あたりの筋収縮による ATP 消費量を胎児期と成体で比較出来るよう, ATP 消費の計算をする式を作成した. Negroni-Lascano model ではミオシン ATPase による ATP 消費がクロスブリッジが解離する時に計算されていた. そのため, Negroni-Lascano model を参考に一拍動あたりの消費量が同じ値がとるような式にした.

実際の細胞が ATP 消費を起こすポイントに対応した式を選択するため, トロポニン (TRPN) の反応速度式 (1) に着目し, Ca^{2+} の結合していたトロポニン (TRPN) から Ca^{2+} 解離に向かう時に, ATP 消費が起こるような式 (3) とした. そして, 一拍動あたりの面積が Kyoto model と同様に $29.97 \mu\text{M}$ が算出されるように X の値を変更した.

$$J_{\text{TRPN ATP}} = X \cdot (\text{Ca}_{\text{TRPN Max}} - \text{TRPN}) \cdot k_{\text{off}} \dots (3)$$

第3章 結果と議論

3.1 Nmodel の再現

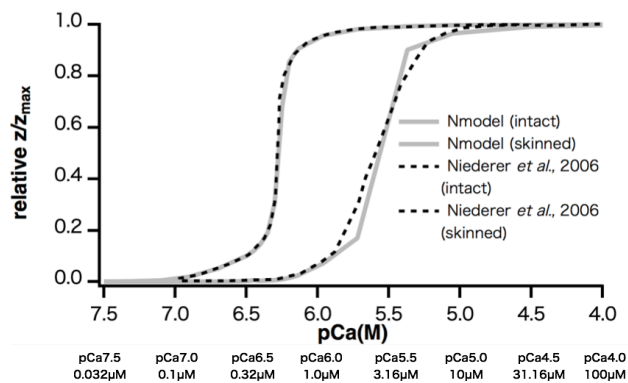


図 8. N model の intact 細胞と skinned 細胞の再現

図 8 では、N model で再現された成体の心室筋細胞の intact (未処理) 細胞と skinned (細胞膜除去) 細胞について、細胞内 Ca^{2+} 濃度-張力の比較を行った。skinned は細胞膜除去を行った細胞、intact は未処理の細胞である。 Ca^{2+} を固定すれば、intact 細胞と skinned 細胞の再現が可能であるが、図 8 のように intact 細胞と skinned 細胞では、収縮力が発生する Ca^{2+} 濃度に $9 \mu\text{M}$ 程度の差があり、skinned 細胞の方がより高濃度でないと収縮しない。実際の細胞やその再現をする時 (図 9)、細胞内 Ca^{2+} 濃度は、波のような波形で変化し、成体でも $10^{-6} \mu\text{M}$ 程度しか上がらないため、skinned 細胞では、収縮力は生じない。このことから、KyotoN model は、Nmodel の intact 細胞の挙動をもとに統合し、そこから胎児期の再現をした。

3.2 胎児期モデルの構築

3.2.1 胎児期モデルと成体モデル

実験データ [1] と KyotoN model の収縮による張力のピークと、そこに達するまでの時間を相対的に近い値を再現した。この時、 Ca^{2+} 感受性を成体の 2 倍と MHC に結合可能なアクチン領域の割合を 3 倍だった。収縮力による張力のピークは、実験データ [1] では胎児期と成体の差が 1.18 倍で得られており、KyotoN model では 1.22 倍で再現できた。同時に、ピークに達するまでの時間は実験データ [1] では胎児期と成体の差が 52 ms, KyotoN model では 49 ms どちらも近い

値で再現できた (表 2).

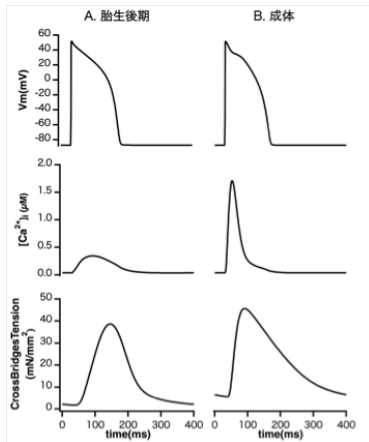


表 2. 実験データ [1] と KyotoN model の胎児期, 成体がとる収縮力による張力のピークと, ピークに達するまでの時間.

筋収縮の変更したポイント	agata <i>et al.</i> , 1994	(agata <i>et al.</i> , 1994) 胎児期, 成体の差	KyotoN model	(KyotoN model) 胎児期, 成体の差
収縮による張力のピーク	成体 62.02 mg 胎児期 52.64 mg	1.18 倍	45.69 mN/mm ² 37.54 mN/mm ²	1.22 倍
ピークに達する時間	成体 123.3 ms 胎児期 175.3 ms	52 ms	50.1 ms 99.0 ms	49 ms

図 9. KyotoN model の胎児期と成体モデルの活動電位, 細胞内 Ca^{2+} 濃度, 収縮力 (mN/mm^2).

3.2.2 変更したパラメータについて

また, 実験データの筋収縮を N model で再現するために変更したトロポニンの反応速度 (J_{TRPN}) と MHC の結合可能なアクチンの領域の割合 (dz/dt) の変更についての妥当性を述べる.

a. Ca^{2+} 感受性 2.0 倍

胎児期のモデルを再現するために式 (1) を用いて Ca^{2+} 感受性を変化させる値 k_{TRPN} は 2 倍した. ssTnI から cTnI に切り替わることで生じるとされている Ca^{2+} 感受性の違いをトロポニンの反応速度の式の中の細胞内 Ca^{2+} にかけることで, 変更した. 他にも KyotoN model の中には, Ca^{2+} に関連するチャンネル電流の活性量や Ca^{2+} 濃度パラメータによっての変更が可能であるが, TnI のアイソフォームの違いによる Ca^{2+} 感受性の再現には, トロポニンの反応速度の中で変更する事が生物学的にも妥当な方法であると考えた.

b. MHC の結合可能なアクチンの領域の割合 3.0 倍

式 (2) の $k_z = 3.0$ は, MHC 結合可能なアクチンの割合の領域の変更によって, 収縮の速度に 3 倍の違いが生まれた. $z/z_{\text{max}} = T_0/T_{0\text{max}}$ がモデル内で成り立つように k_z かけられる値は直接的に筋収縮の張力 T_0 に影響をする. 収縮の検討を行う際に用いるパラメータとして適していると考えられる. z の示す割合は, アクチン表面に結合可能な割合と解離に向かう割合の 2 状態で細

かく解釈しても再現出来る。また、今回は、実験データ [1] の再現において、 Ca^{2+} 感受性の値だけでは再現が難しく、 z があることでより再現し易くなった。実際の収縮関連タンパク質も z のパラメータが生むような影響を持つタンパク質が TnI のアイソフォームの他に存在する可能性がある。 z のように収縮に影響を与える分子として、アクチンやミオシンのアイソフォームが関係する可能性がある。実際に心筋細胞において、 αMHC と βMHC の違いがアクチン活性との相互作用によって収縮の速度が 2, 3 倍変化することが知られている [4]。この実験は、 αMHC を 100%, βMHC を 100%発現させているときの影響を比較しているため、 z の値として変更するには小さい可能性がある。しかし、収縮が成体よりも 3 倍異なることは、生物学的に起こりうる値である。

3.3 モデルの妥当性の検証

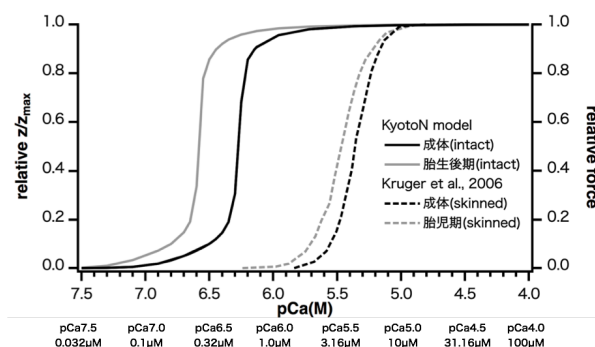


図 10. KyotoN (intact 細胞) と実験データ(skinned 細胞) [8] の比較

図 10 では、実線で示した KyotoN model (intact 細胞) のシミュレーション結果と点線で示した実験データ (skinned 細胞) [8] を比較した。実験データについては intact 細胞のものは成体しか得られなかったため、skinned の胎児期と成体の結果と比較した。それぞれ胎児期の細胞内 Ca^{2+} 濃度-張力関係をシミュレーションした結果、成体のモデルに比べて左にずれる形となった。これは、モルモットの胎児期と成体の skinned 細胞の実験データやラットの胎児期と成体の skinned 細胞の実験データ[8]、からも同様の傾向が見られた。

胎児期と成体の差が KyotoN model と実験データ [8] でどの程度異なるかを比較した。その結果、実験データ [8] よりも KyotoN model の方が胎児期と成体の曲線において 2.76 倍大きいと

いう差が出た。比較的同様の傾向がモデル内でも起きていることが分かったが、今後は intact 細胞の胎児期の実験データが得られれば、同様の環境の結果と照らし合わせる事ができ、よりモデルの妥当性が上がると考えている

3.4 モデルから推測できること

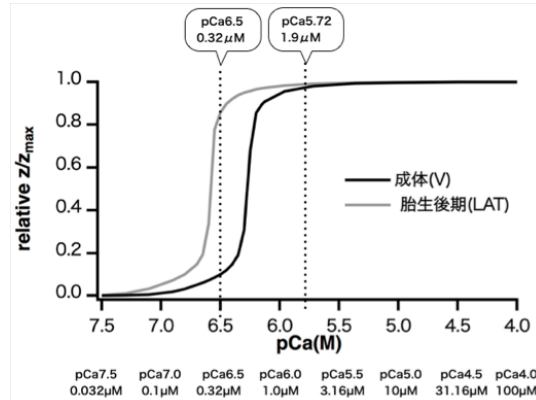


図 11. KyotoN model の細胞内 Ca^{2+} 濃度-張力関係と細胞 Ca^{2+} 濃度

先行研究により、KyotoN model では最大で細胞内 Ca^{2+} 濃度が胎児期では $0.32 \mu\text{M}$ 、成体が $1.9 \mu\text{M}$ が得られるようになっている。心室筋細胞で収縮時に生じる Ca^{2+} は、 10^{-6}M まで上昇することが知られており [19]、同程度の濃度がモデル内でも再現されている。

図 11 の成体の曲線において、細胞内 Ca^{2+} 濃度 $1.9 \mu\text{M}$ に達するポイントでほぼ 100%に近いの収縮力を発揮する事ができる。しかし、成体の曲線のままで胎児期の $0.32 \mu\text{M}$ の濃度では 10%の収縮力も発揮出来ないことになる。これが先行研究の収縮関連タンパク質の考慮されていない時の結果と同じ状態である (図 4)。[1] の収縮力の波形に揃えるためにパラメータを変更し、胎生後期の曲線と置いた結果、胎児期の細胞内 Ca^{2+} 濃度である $0.32 \mu\text{M}$ 程度でも 80%の力を出せるような位置へ左側にずれた。

実際の細胞でも、胎児期も細胞内 Ca^{2+} 濃度のとりうる範囲の中ではほぼ 100%に近い収縮力を維持し拍動し、心筋細胞の収縮をさせないと生存できないはずであり、この再現出来ているのもモデル内のトロポニンの速度式、MHC の結合可能なアクチン領域の割合の変更が収縮関連タンパク質の違いの再現に関連するパラメータとして適していたためだと考えられる。

3.5 筋収縮時の ATP 消費量の考慮

$$J_{\text{TRPN ATP}} = 0.0655 \cdot (\text{Ca}_{\text{TRPN Max}} - \text{TRPN}) \cdot k_{\text{off}} \dots (4)$$

400 ms 当たりの面積を測った時に, $J_{\text{TRPN positive ATP}}$ が 29.97 μM に近い値をとれる式 (3) の係数 X は 0.0655 であった.

また, 式 (4) を用いて 1 拍動 (400 ms) あたりの ATP 消費量を求めた結果, 胎生後期の心筋細胞では ATP 消費量が 35.813 μM であるのに対し, 成体の心筋細胞では 29.916 μM という結果が予測出来た. シミュレーション結果では, 胎児期の方が多くエネルギーを消費している結果となった. この式自体は, Ca^{2+} 濃度が増加するとミオシン ATPase 活性も大きくなる [19] という傾向が Ca^{2+} 感受性のみを独立に増加させた時に再現出来ているため, ATP 消費の判断に使う事ができるだろう. そのため, 今回のように KyotoN model の成体の ATP 消費に対しての増減で相対的に評価をする事は可能であるが, 胎児期も活性量が変わらないままである時に限る. もし, 収縮関連タンパク質の違いにより, ATP 消費の量の差が明らかな値で分かる時, 式 (3) の X の値を胎児期と成体で変更する事で再現可能になる.

結論

発生段階の膜興奮を再現可能なモデルに胎生後期と成体の収縮力も定量的に再現可能なモデルを構築することが出来た. 収縮関連タンパク質の考慮がされたことで, モデル内で胎児期と成体で異なる細胞内 Ca^{2+} 濃度の中でも収縮力が得られるようになった. また, 実験データを用いて, 同様の傾向を得る事ができ, モデルの妥当性の確認も行うことが出来た.

胎児期と成体の心筋細胞は, 細胞内 Ca^{2+} 濃度が異なるため, その濃度の中ではほぼ 100%に近い収縮力を発揮出来るように収縮関連タンパク質も変わっていることがシミュレーション結果を通して, 考えられる. また, 図 3 で示した数ある収縮関連タンパク質の成長過程による量的変化の中で質的に最も影響しているのは, TnI のアイソフォームや MHC での可能性があることを示唆した.

今後このモデルが収縮関連タンパク質の分子と対応付けができれば, 実験データと照らし合わせて, より分かり易い形で値の変更が可能になる. そうすれば, 収縮関連タンパク質の変更

で再現出来るような心室筋細胞以外の心筋細胞モデルや他の生物種の成長過程を含めた予測や、胎児期の収縮関連タンパク質の再発現が原因となる疾病モデルの再現が可能になると期待している。

謝辞

修士論文の執筆において、お世話になった多くの方々に心からお礼申し上げます。

本研究を進めて行くにあたりアドバイザーを 2 年間引き受けてくださいました、佐野ひとみ専任講師には、E-Cell ミーティングに加えて、毎週のミーティング、私生活においても大変お世話になりました。

また、内藤泰宏准教授には入学前から大変お世話になりました。SFC のカリキュラムや研究内容など学部生の時からご相談させて頂きました。E-Cell ミーティングに加えて今学期は個人的にもミーティングのお時間を頂き、研究についてのアドバイスを頂きました。

私生活においても、14 春のメンバー、E-Cell プロジェクトの皆様、再生医療チームの皆様、M2 の同期、IAB の皆様に大変お世話になりました。入学当時から分からない事を沢山教えて頂き、SFC での生活に早くなじむ事ができ大変感謝をしています。楽しい学生生活を送る事ができました。

最後になりましたが、私は先端生命科学研究所に在籍することが出来て本当に幸せでした。富田勝教授の書いた文章がきっかけとなり先端生命科学研究所を知りました。初めてコテージを訪れた日の事を今でも鮮明に覚えております。私の今後の人生において、この新鮮で刺激的な 2 年間で大きな糧になることは間違いないと確信しております。初めてお会いしたときから心よく導き入れてくださり、恵まれた環境を与えてくださいました、富田勝教授に心から感謝を申し上げます。

参考文献

- [1] Agata, N., Tanaka, H., Shigenobu, K. (1994). Inotropic effects of ryanodine and nicardipine on fetal, neonatal and adult guinea-pig myocardium. *European Journal of Pharmacology*, **260** (1), 47–55.

- [2] Anderson, P.A.W. (1996). The heart and development. *Seminars in Perinatology*, **20** (6), 482–509.
- [3] Bers, D.M. (2001). *Excitation-Contraction Coupling and Cardiac Contractile Force* edn 2. Kluwer Academic, Dordrecht, Netherlands, pp 1-427
- [4] Herron, T.J., McDonald, K.S. (2002). Small amounts of alpha-myosin heavy chain isoform expression significantly increase power output of rat cardiac myocyte fragments. *Circulation Research*, **90** (11), 1150-1152.
- [5] Itoh, H., Naito, Y., Tomita, M. (2007). Simulation of developmental changes in action potentials with ventricular cell models. *Systems and Synthetic Biology*, **1** (1), 11-23.
- [6] Jarmakani, J. M., Nagatomo, T., Nakazawa, M., Langer, G.A. (1978). Effect of hypoxia on myocardial high-energy phosphates in the neonatal mammalian heart. *The American Journal of Physiology*, **235** (5), H475–H481.
- [7] Kuzumoto, M., Takeuchi, A., Nakai, H., Oka, C., Noma, A., Matsuoka, S. (2008). Simulation analysis of intracellular Na⁺ and Cl⁻ homeostasis during β 1-adrenergic stimulation of cardiac myocyte. *Progress in Biophysics and Molecular Biology*, **96** (1-3), 171–186.
- [8] Krüger, M., Kohl, T., Linke, W.A. (2006). Developmental changes in passive stiffness and myofilament Ca²⁺ sensitivity due to titin and troponin-I isoform switching are not critically triggered by birth. *American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology*, **291** (2), H496–H506.
- [9] Marston, S.B. (2003). Modulation of Thin Filament Activation by Breakdown or Isoform Switching of Thin Filament Proteins: Physiological and Pathological Implications. *Circulation Research*, **93** (12), 1170–1178.
- [10] Murphy, A.M. (1996). Contractile protein phenotypic variation during development. *Cardiovascular Research*,

31, E25–33.

[11] Negroni, J. A., Lascano, E. C. (1996). A cardiac muscle model relating sarcomere dynamics to calcium kinetics. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, **28** (5), 915–29.

[12] Niederer, S.A., Hunter, P.J., Smith, N.P. (2006). A Quantitative Analysis of Cardiac Myocyte Relaxation: A Simulation Study. *Biophysical Journal*, **90** (5), 1697–1722.

[13] Okubo, C., Sano, H.I., Naito, Y., Tomita, M. (2013). Contribution of quantitative changes in individual ionic current systems to the embryonic development of ventricular myocytes: a simulation study. *The Journal of Physiological Sciences*, **63** (5), 355-367.

[14] Takahashi, K., Kaizu, K., Hu, B., Tomita, M. (2004). A multi-algorithm, multi-timescale method for cell simulation. *Bioinformatics*, **20** (4), 538-46.

[15] Terkildsen, J.R., Niederer, S., Crampin, E.J., Hunter, P., Smith, N.P. (2008). Using Physiome standards to couple cellular functions for rat cardiac excitation-contraction. *Experimental Physiology*, **93** (7), 919–929.

[16] Van der Velden, J., Moorman, A.F., Stienen, G.J. (1998). Age-dependent changes in myosin composition correlate with enhanced economy of contraction in guinea-pig hearts. *The Journal of Physiology*, **507** (2), 497–510.

[17] 北風政史. (2005). 心臓の収縮と弛緩 —その調節と破綻, そして治療—. *メディカル・サイエンス・インターナショナル*, pp1-191.

[18] 小室一生. (1999). 心臓発生の分子機構と 21 世紀の心臓病学研究の方向性, *実験医学*, **17**(11), pp 1286-1290.

[19] ライオネル・H・オピー. (2008). *オピーの心臓生理学 細胞から循環まで*. 西村書店, pp 1-455.