

平成 30 年 6 月 19 日現在

機関番号：32612

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2017

課題番号：16K16393

研究課題名(和文) 心筋細胞発生過程において恒常的な収縮の維持に関わる要素の探求

研究課題名(英文) Developmental changes in the balance of glycolytic ATP production and oxidative phosphorylation in ventricular cells

研究代表者

佐野 ひとみ (Sano, Hitomi)

慶應義塾大学・医学部(信濃町)・特別研究員(RPD)

研究者番号：70584019

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：申請者は、包括的心筋細胞モデルを活用してイオンチャネルの量的変化を表現し、胎生初期段階の自発興奮、及び後期段階から新生仔期における活動電位波形の変化をコンピュータ・シミュレーションにより再現した。本研究では、胎仔期と成体における代謝動態を再現するため、数理モデルの拡張とパラメータの実装を行った。胎仔期と成体のモデルではATP産生に関わる解糖系、ミトコンドリアの電子伝達系、クレアチンリン酸分解のバランスが異なる。この違いにより、胎仔期モデルと成体モデルでは解糖系の中間代謝物の濃度が異なる値で定常に至ることを示した。

研究成果の概要(英文)：The developmental program of the heart requires accurate regulation to ensure continuous circulation and simultaneous cardiac morphogenesis, because any functional abnormalities may progress to congenital heart malformation. Here, we constructed a mathematical model to integrate various characteristics of fetal ventricular cells and predicted the contribution of each characteristic to the maintenance of intracellular ATP concentration and sarcomere contraction under anoxic conditions. Our simulation results demonstrated that higher glycogen content, higher hexokinase activity, and lower creatine concentration helped prolong the time for which ventricular cell contraction was maintained under anoxic conditions. The integrated model also enabled us to quantitatively assess the contributions of factors related to energy metabolism in ventricular cells.

研究分野：システム生物学

キーワード：代謝シミュレーション 数理モデル ミトコンドリア 解糖系 シミュレーション システム生物学  
電気生理 低酸素応答

## 1. 研究開始当初の背景

心筋細胞の収縮は、様々な要素の相互作用によって起こる動的な反応の連鎖により成立する。例えば、細胞膜興奮により電位依存性  $\text{Ca}^{2+}$  チャンネルを介して流入する  $\text{Ca}^{2+}$  は筋小胞体からの  $\text{Ca}^{2+}$  誘発  $\text{Ca}^{2+}$  放出 ( $\text{Ca}^{2+}$ -induced  $\text{Ca}^{2+}$  release: CICR) と呼ばれる機構による更なる  $\text{Ca}^{2+}$  の増加を促し、細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  濃度の一過性変化が収縮に至る。CICR 機構には、細胞膜の陥入構造 (T 管) が重要な役割を果たし、また、エネルギー産生・消費も細胞内における関連酵素の局在化を始めとして、様々な要素により制御されている。

(エネルギー産生) 成体の心室筋細胞は、好気条件下では、細胞が消費する ATP の約 98% がミトコンドリアの酸化的リン酸化 (好氣的代謝)、残り 2% が解糖系 (嫌氣的代謝) によって賄われている<sup>文献1</sup>。虚血性心疾患などにより、細胞への酸素供給が低下すると、ミトコンドリアにおける好氣的代謝の低下をもたらす、代替手段として嫌氣的代謝による ATP 産生が増加する。

(エネルギー消費) 心筋細胞の収縮・弛緩 1 回に必要な ATP 消費は、ミオシン ATP アーゼ、筋小胞体  $\text{Ca}^{2+}$  ポンプ (SERCA)、 $\text{Na}^+$ - $\text{K}^+$  ポンプによる消費が、それぞれ 76%、15%、9% を占める<sup>文献2</sup>。最も多くの ATP を消費するミオシン ATP アーゼが存在する筋原線維の間にはミトコンドリアが存在する。一方で、解糖系に関わる酵素は細胞膜直下と SR 表面に存在するため  $\text{Na}^+$ - $\text{K}^+$  ポンプと SERCA は解糖系由来の ATP を消費していると考えられている<sup>文献3</sup>。

(発生過程によるエネルギー産生・消費の変化) 胎仔の心筋細胞では、ミトコンドリアが未発達で ATP 産生は解糖系に依存しており、細胞内グリコーゲンが成体の 10 倍程度存在するなど、成体とは異なる特徴を有している<sup>文献4</sup>。胎仔期の心室筋細胞は酸素供給が低い環境で機能しているため、細胞を低酸素状態

に晒しても、細胞内 ATP 濃度を成体よりも長時間維持できる<sup>文献5</sup>。

新生仔期以前の心筋細胞では、細胞膜直下の  $\text{Ca}^{2+}$  濃度が細胞の中心部よりも高い<sup>文献6</sup>。本研究に関連するシミュレーション研究として、この細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  勾配が 1) 胎生初期における SR からの自発的な  $\text{Ca}^{2+}$  放出に関与し<sup>文献7</sup>、2) 新生仔期から成体にかけて  $\text{Na}^+$ - $\text{Ca}^{2+}$  交換機転の T 管上に局在化することで勾配が解消されること<sup>文献8</sup> が示されている。しかし、収縮への影響については言及されていなかった。

## 2. 研究の目的

申請者は、発生過程による細胞膜興奮の変化に着目し、胎生初期・後期、新生仔期の 3 段階の数理モデルを構築した<sup>文献9</sup>。また、胎生初期・後期の「途中段階」をシミュレートし、量的変化を伴う要素が変化の膜興奮への寄与を定量的に記述した<sup>文献10</sup>。本研究では、これまで細胞膜興奮レベルで行った研究を進展させ、エネルギー産生・消費と細胞内微細構造に関連する量的・質的な知見を数理モデルに統合し、代表的な発生段階の間にある途中段階のシミュレーションを行った。具体的には、シミュレーションによる予測結果に基づいて、胎仔の心筋細胞が低酸素状態でも拍動を維持する上で、最も重要な要素・相互作用は何か、定量的に示すことを目指した。

## 3. 研究の方法

本研究は、包括的心筋細胞モデル Kyoto model<sup>文献11</sup> に基づいて行った。申請者は、これまでに、発生過程による各イオンチャンネルの量的変化を成体モルモットの心室筋細胞モデルである Kyoto model に統合し、共通の数理モデルから派生して発生過程上典型的な 3 段階 (胎生初期、胎生後期、新生仔期) の活動電位を良く再現できることを示した<sup>文献9</sup>。本研究では、まず初めに、エネルギー代

謝制御機構とT管構造の変化について, 下記の手順により数理モデルを拡張した.

1) エネルギー産生・消費に関連する量的・質的な知見を統合. Kyoto model には, 近年, 解糖系の数理モデル<sup>文献 12</sup> が導入された<sup>文献 13</sup>. 胎仔の解糖系に関わる酵素の活性が成体と異なること<sup>文献 14</sup> を踏まえ, 予備的検討では, 胎生期の心室筋細胞モデルに解糖系に関わる酵素の活性量を実装し, 低酸素状態のシミュレーションを行った. しかし, 低酸素状態に晒すと ATP 濃度が維持される実験的な報告<sup>文献 15</sup> の再現には至らず, 酵素の活性量のみでは ATP 濃度が維持される仕組みは説明できないことが示唆された. エネルギー産生の変化に関連する知見として, 細胞内グリコーゲン濃度を成体の 10 倍程度, 総クレアチン濃度を成体の 1/2 程度とする他<sup>文献 14</sup>, 成体の心室筋細胞で知られている解糖系関連酵素の細胞膜直下と SR 表面への局在<sup>文献 15</sup> も考慮し, 数理モデルを構築した. 2) 様々な摂動を与えるシミュレーションを行い, 数理モデルの妥当性を検証. 低酸素状態の他, 解糖系とミトコンドリアによる ATP 産生の抑制や, 胎生致死に至ることが知られている RyR チャンネルと  $\text{Na}^+$ - $\text{Ca}^{2+}$  交換機転の抑制および  $\text{K}_{\text{ATP}}$  チャンネルの過剰発現などもシミュレートし, 新たな知見を統合した数理モデルが実験データをどの程度再現できるか検証した. 再現できない現象については, 数理モデルの見直しを行い, 知見の統合とシミュレーションを繰り返した. 心筋細胞の発生過程では, 胎生期から新生仔期を経て, 成体に至るまでの過程で, イオンチャンネルの量的・質的变化,  $\text{Ca}^{2+}$  動態に関わる筋小胞体と T 管構造の変化, エネルギー産生機構 (好気・嫌気代謝の割合等) の変化が起こる. これらの量的・質的变化に関する知見を数理モデルに統合し, 低酸素状態などの摂動を与えるシミュレーションを実施した.

#### 4. 研究成果

低酸素環境に晒すシミュレーションを行った結果, 胎仔期の心筋細胞において(1)グリコーゲン濃度が高い, (2)解糖系上流の酵素活性が高い, (3)総クレアチン量が少ない, という 3 つ の特徴がいずれも低酸素環境における収縮力の維持に寄与することを示した.

#### 参考文献

- 1) Stanley *et al.*, (2002) *Heart Fail Rev.* 7(2):115-30
- 2) Schramm *et al.*, (1994) *J Physiol.* 481(3):647-62
- 3) Dhar-Chowdhury *et al.*, (2007) *Cell Mol Life Sci.* 64(23):3069-83
- 4) Rolph *et al.*, (1983) *J Dev Physiol.* 5(1):31-49
- 5) Jarmarkani *et al.*, (1978) *Am J Physiol.* 235(5):475-81
- 6) Seki *et al.*, (2003) *Cardiovasc Res.* 58(3):535-4
- 7) Korhonen *et al.*, (2008) *J Gen Physiol.* 132(4):407-19
- 8) Haddock *et al.*, (1999) *Circ Res.* 85(5):415-27
- 9) Itoh *et al.*, (2007) *Synt Synth Biol.* 1(1):11-23
- 10) Okubo *et al.*, (2013) *J Physiol Sci.* 63(5):355-67
- 11) Kuzumoto *et al.*, (2008) *Prog Biophys Mol Biol.* 96(1-3):171-86
- 12) Lambeth *et al.*, (2002) *Ann Biomed Eng.* 30(6):808-27
- 7) Jarmarkani *et al.*, (1978) *Am J Physiol.* 235(5):475-81
- 13) 天野晃ら (2010) 電子情報通信学会論文誌 93(3): 398-408.
- 14) Lueck *et al.*, (1974) *J Biol Chem.* 249(5):1341-7
- 15) Rolph *et al.*, (1983) *J Dev Physiol.* 5(1):31-49

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 3 件)

- (1) Hitomi I. Sano, Tamami Toki, Yasuhiro Naito, Masaru Tomita. Developmental changes in the balance of glycolytic ATP production and oxidative phosphorylation in ventricular cells: A simulation study (2017) Journal of Theoretical Biology 419: 269-277. (査読あり)
- (2) Maiko Wakita, Hitomi I. Sano, Yasuhiro Naito, Masaru Tomita. Combination of Quantitative Changes in Ionic Components to Enhance the Contractile Force during T-tubule Development. (2016) Computing in Cardiology 43 (10.22489/CinC.2016.314-180) (査読あり)
- (3) Hitomi I. Sano, Yasuhiro Naito, Masaru Tomita. Simulation Study on the Balance of Glycolytic ATP Production and Oxidative Phosphorylation in Embryonic and Adult Ventricular Cells. (2016) Computing in Cardiology 43 (10.22489/CinC.2016.074-178) (査読あり)

[学会発表](計 3 件)

- (1) Hitomi I. Sano. Developmental changes in balance of glycolytic ATP production and oxidative phosphorylation in ventricular cells: a simulation study. IUPS 38<sup>th</sup> World Congress 2017年
- (2) Hitomi I. Sano, Maiko Wakita, Yasuhiro Naito, Masaru Tomita. Dynamic simulation of excitation-contraction coupling in developing ventricular cells. 計測自動制御学会. 2016年
- (3) Hitomi I. Sano, Maiko Wakita, Yasuhiro Naito, Masaru Tomita. Simulation of developmental changes in ventricular cells. International and Interdisciplinary Symposium. 2016年

6 . 研究組織

(1)研究代表者

佐野 ひとみ (SANO, HITOMI)  
慶應義塾大学・医学部・特別研究員 (RPD)  
研究者番号 : 70584019