

令和 3 年 6 月 18 日現在

機関番号：23901

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2020

課題番号：17K00412

研究課題名(和文)細胞の生理と物理に基づいた血管系のマルチスケールモデル

研究課題名(英文)A multiscale model of the vascular system based on cell physiology and biophysics

研究代表者

神山 斉己(Kamiyama, Yoshimi)

愛知県立大学・情報科学部・教授

研究者番号：70233963

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：動脈硬化症の初期段階では血管内皮機能が低下することが知られている。そうした内皮機能の非侵襲的な評価手法として、血流依存性血管拡張反応検査が普及しつつある。この反応は血流刺激に対し、内皮細胞が血管拡張物質となる一酸化窒素を産生し、続いて平滑筋細胞の生理学的作用により血管壁の機械的構造が変化することで引き起こされる。本研究では、こうした生体内での信号伝達や反応について、細胞レベルでの機械的刺激の受容機構、イオンチャネル機構、信号伝達機構などの特性を数理モデルとして記述した。血流刺激から血管径変化にいたるマルチスケールな反応のシミュレーションによって、血管内皮機能を詳細に解析できるようになった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

血管の機能低下は脳血管疾患をはじめ多くの疾患を引き起こし、生活に多大な影響を及ぼすことから、その主な要因である動脈硬化の早期診断が重要な課題となっている。本研究では血管を構成する細胞の特性を数理的に記述したコンピュータモデルを開発した。このモデルを用いて、血管機能検査によって得られる血流や血管径などの計測データをシミュレーション解析することによって、従来技術では分析不可能であった血管内の細胞レベルの特性を明らかにできる可能性があることがわかった。

研究成果の概要(英文)：Endothelial function is considered to be impaired at an early phase of atherosclerosis. The flow-mediated dilation (FMD) test is used to assess the endothelial function. FMD is induced by the wall shear stress exerted by blood flow on endothelial cells. However, the details of the response are not still clear because the path of signal transduction is highly complicated. In this study, we developed a mathematical model that integrates endothelial and smooth muscle cells. We evaluated the model by comparing the results obtained through simulations and experiments on FMD. We demonstrated that the model is applicable for the simulation of the dynamics of intracellular ion movements to analyze the physiological mechanisms and sequence of endothelial function.

研究分野：生体情報処理

キーワード：血管内皮細胞 血管平滑筋細胞 数理モデル 動脈硬化

1. 研究開始当初の背景

日本人の死因のうち循環器系疾患は、悪性新生物に次いで、約25%と大きな割合を占めている。特に血管の機能低下は脳血管疾患をはじめ多くの疾患を引き起こし、生活に多大な影響を及ぼすことになる。従って、循環器系の健康を保つことは健全な高齢化社会を迎えるためにも極めて重要といえる。こうした社会的背景から、循環器系疾患の要因となる動脈硬化の早期診断は重要な課題とされている。動脈硬化は、血管内皮細胞の機能低下がトリガとなって、器質的、形態的变化として生じることから、血管内皮機能をいかに迅速に評価するかが鍵といえる。非侵襲的な血管内皮機能の評価方法として、血流依存性血管拡張反応(FMD:Flow-Mediated Dilatation) 検査が普及しつつある。FMD 検査は、血流変化に伴って血管内皮細胞が産生する一酸化窒素(NO) の量を血管の拡張度合(安静時より何%拡張したか)によって評価するものである。FMD 反応には、血管内皮機能や平滑筋機能をはじめ複数の要素の影響が含まれている。現行のFMD 検査では血管径の拡張度合が内皮機能の代理指標として採用されているが、FMD に含まれる内皮機能以外の平滑筋機能等の影響がアーチファクトの形で出現し、検査結果の定量性を低下させる要因になっている。

こうした問題を解決する手法として、統計的分析や機械学習に基づいた診断指標の開発も進められている。しかしながら、そうした数値的指標による分析のみでは、生体内で生じている細胞レベルのメカニズムに関する情報を十分抽出できないことが問題である。一方、血管系の特性を忠実に再現した数理モデルが完成すれば、診断指標の妥当性や安定性にも原理的なレベルから答えることが可能となる。すなわち、血管系の超精密な数理モデルが完成すれば、血管内皮細胞のNO 産生に關与する速度定数変化や平滑筋細胞の特性を変化させた場合のFMD シミュレーションなどを自由自在に行うことが可能となり、精密な医療診断や先端医療技術開発などの強力なツールになるものと期待される。従来、国内外で提案されてきた血管モデルは、主に全身の血流状態をシミュレーションするために、流体力学的な観点から構築されたものである。一方、これまで未開拓であった細胞の生理メカニズムを含めたモデル化を行うことは、FMD 検査指標と生理機能との関連付けを可能にするものとして期待できる。

2. 研究の目的

本研究では、血管に関わる様々な要素やその動作を数理的に記述し、コンピュータ内にリアリスティックな血管を再現できるレベルの(1)モデル構築技術、(2)シミュレーション技術を確立することを主な目的としている。

(1) 血管モデル構築技術の確立

血管の内面を覆う血管内皮細胞では、機械的刺激であるずり応力が情報として受容され、細胞内シグナルに変換される。本研究では、血流により生成されるメカニカルストレス(ずり応力、伸展刺激等)に対する血管応答のモデル化を行う。すなわち、血管のメカノセンシング機構に由来する血管応答は、血管内皮細胞と平滑筋細胞の機能、細胞間の力学的、生理学的なシグナル伝達により形成される。そこで、血管内皮細胞、平滑筋細胞のモデル開発においては、分子レベルの機械的性質、イオンチャネルの電気生理学的特性、細胞内シグナリングの生化学的性質までを含めたマルチスケールなメカニズムの再現を行う。

(2) 血管モデルのシミュレーション技術の確立

血管モデルの構築は、標準的な血管モデルと計測データを比較し、モデル内部のパラメータを調整することで実現する。しかしながら、ヒトを対象とした場合、非侵襲的に得られるデータは、血流、血圧、血管径などであり、こうしたデータから細胞レベルのパラメータを推定する手法が必要となる。この問題に対して、データ同化を導入し、血管の数理モデルを構成するサブモデルの内部パラメータを推定する手法を確立する。これにより、個人の検査データに基づいたコンピュータ上への超精密な血管の再現を実現する。

3. 研究の方法

(1) モデル構築技術

血管内皮細胞のモデルは、構造及び機能的な特性に基づいて、3種類のサブモデル、すなわち、力学的モデル、電気生理学的モデル、生化学的モデルから構築する。力学的モデルでは、血流に由来するずり応力をセンシングするメカノセンシング、メカノトランスダクション機構をモデル化する。電気生理学的モデルでは、細胞膜に存在する複数のイオンチャネル特性をパラレルコンダクタンス型の電氣的等価回路としてモデル化する。生化学的モデルでは、細胞内伝達物質の反応系を微分方程式としてモデル化する。

(2) シミュレーション技術

全身の血流動態をシミュレーションするモデルとして、血管セグメントを複数結合させたマルチブランチモデルが従来から用いられている。しかし、このモデルは血管壁を単純な弾性体として仮定して構築されたモデルであるため、FMD 反応のような血管を構成する細胞の特性が

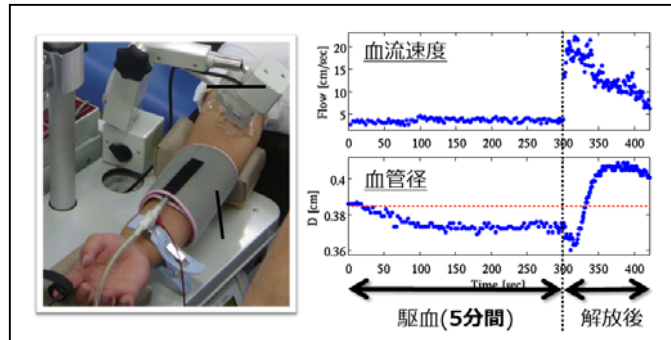
ダイナミックに変化した条件を再現することができない。一方、本研究で構築する各細胞のモデルは、細胞の各構成要素のダイナミックな特性を忠実に記述したものである。そこで、細胞レベルのモデルから全身の各部位の血管セグメントモデルを構成し、それらを結合することで全身モデルを構築する。ヒト動脈に関して非侵襲的に記録できる実験データは、血流波形や血圧波形に制限される。そこで、これらのデータから細胞特性に関するモデルパラメータをデータ同化の手法を活用して推定する。これに先立ち、FMD 計測データを対象とした解析により、血管壁のヤング率変化などを動的に推定できるという予備的研究結果を得ていた（浅見ら）。

4. 研究成果

(1) FMD 検査時の血流・血管壁動態

FMD 検査は、超音波計測装置を用いて内皮機能を評価する手法である。検査では、5 分間の前腕部の駆血操作により、駆血解放後に上腕部の血流速度が上昇する。

それに伴い、上腕の血管径が拡張する (FMD 反応) ため、その拡張度合いから内皮機能を評価している。図は、検査時の様子と観測データを示しており平均血流速度と血管径の経時的な変化を得ることが出来る。FMD 検査時の観測データに対する経時的な特徴として、駆血中の血管径が安静時径より低い値をとる現象や駆血解放直後に血流速度が急激に増大 (反応性充血) し、その約 10 秒後に血管径が拡張し始め、駆血解放後約 60 秒後に最大血管径となる (FMD 反応) ことなどが挙げられ、こうした特性が確認された。

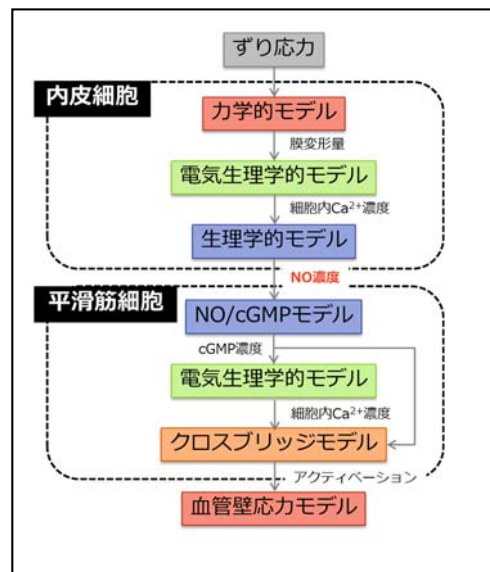


約 60 秒後に最大血管径となる (FMD 反応) ことなどが挙げられ、こうした特性が確認された。

(2) 構築したモデル

FMD 検査で評価する FMD 反応の大きさは、内皮細胞がずり応力を感知して産生される NO 濃度に依存している。内皮細胞における NO 産生の生理学的機序は、短期的なものと同期的なものに分けることが出来る。短期的な変化は、ずり応力に対して IP3 濃度と Ca^{2+} 濃度が上昇し、NO 合成酵素 (eNOS) が活性化することで生じる。一方、長期的な変化は、eNOS 遺伝子の発現によって生じる。本研究で対象とする FMD 反応は、数分間の変化であるため、短期的な NO 産生が大きく関係していると考えられる。

また、内皮細胞で産生された NO は隣接する平滑筋細胞に急速に拡散し、cGMP へ変換を触媒する sGC を活性化する。血管平滑筋細胞における NO/cGMP 経路は重要な信号伝達経路であり、セカンドメッセンジャーである cGMP は cGMP 依存性プロテインキナーゼ (PKG) を活性化し、(1) 細胞内 Ca^{2+} 濃度の低下、(2) アクチン-ミオシン収縮系の脱感作を誘発する。2つの効果はともに平滑筋細胞の弛緩へとつながり、血管径を拡張させる。本研究では図に示したように、ずり応力に対する血管径拡張までの一連の信号伝達経路をスケールごとに分類してモデリングした。血流による刺激であるずり応力を内皮細胞が感知し、NO を産生する。その後、平滑筋細胞に NO が拡散されることでミオシンの活性度を表すアクティベーションが計算され、それに合わせて血管径が変化する。



(2-1) 血管内皮細胞の NO 産生モデル

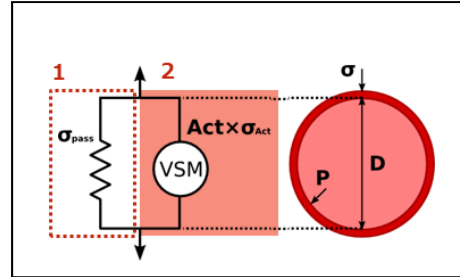
内皮細胞のモデルは、内皮細胞のメカノセンシング機構をモデル化して、ずり応力に対する細胞内の生体物質動態のシミュレーションを可能にするものである。ずり応力から NO 産生までの生体内機序とモデル構造を大きく 3 つに分類し、力学的モデル、電気生理学的モデル、生理学的モデルから構成した。力学的モデルは、ずり応力に対する内皮細胞の変形量を計算するモデルである。Mazzag の計算手法を用いて、細胞にかかる力に対する各要素の変位を計算した。電気生理学的モデルは、細胞内 IP3 濃度が変化した時の細胞内イオン動態を計算するモデルである。力学的モデルによって計算された膜変形量を入力とし、IP3 産生を記述した。生理学的モデルは、内皮 NO 産生メカニズムを 4 つの機能に分けてモデル化したものである。電気生理学的モデルから Ca^{2+} 流入によって eNOS が活性化される構成とした。

(2-2) 中間平滑筋細胞モデル

血管平滑筋細胞における NO/cGMP 経路は、血管径弛緩を調整するために重要な細胞シグナル伝達系である。本研究では、Yang らにより提案された数理モデルを導入し、NO/cGMP に誘発される平滑筋弛緩効果をモデル化した。平滑筋力は主にミオシンとアクチンフィラメント間のクロスブリッジに依存する。そして、それらはリン酸化されたミオシン軽鎖(MLC)によって制御され、MLCK(ミオシン軽鎖キナーゼ)と MLCP(ミオシン軽鎖ホスファターゼ)はそれぞれ活性化および阻害する働きを持っている。NO/cGMP 経路は、主に二つの効果によって平滑筋細胞の弛緩に繋がると考えられる。すなわち、細胞内 Ca^{2+} 濃度の減少、アクチン-ミオシン収縮系の Ca^{2+} 脱感作である。細胞内 Ca^{2+} の減少は、cGMP を介して細胞膜イオン電流 (IKCa, ICaL, ICaP) を制御し、細胞外 Ca^{2+} の流入を減少させる。収縮系の Ca^{2+} 脱感作は、MLC の脱リン酸化を制御する cGMP 依存の MLCP の活性化により行われる。本研究では、3 つのイオン電流による細胞内 Ca^{2+} 濃度の減少と MLCP の活性化を数理的に記述した。

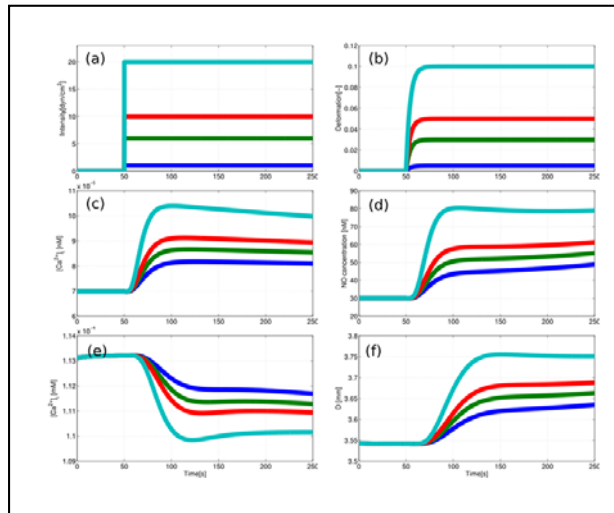
(2-3) 血管壁応力モデル

血管壁応力モデルは、Yamazaki らによって提案されたクロスブリッジモデルで計算されるミオシンの活性化度合いに従った血管径(D)変化を記述する血管壁の物理的なモデルを採用した。血管壁への全負荷は、非線形で受動的な負荷 (σ_{pass}) と最大活性時の負荷 (σ_{Act}) の和として計算する。アクティベーション Act はミオシンの活性度を表し、平滑筋細胞のクロスブリッジモデルを用いて計算するようにしてある。



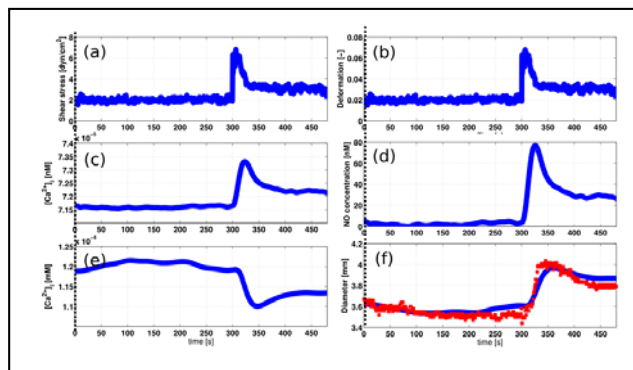
(3) シミュレーション結果

図は、構築したモデルにステップ状のずり応力を加えた際のシミュレーション結果である。ずり応力は、1, 6, 10, 20 [dyn/cm²] の 4 つの強度を加えている。内皮細胞では、(a)ずり応力に対して (b)膜変形量と (c)細胞内 Ca^{2+} 濃度が増加し、それに伴い (d)NO が産生されている。さらに、平滑筋細胞では、NO に応じて (e)細胞内 Ca^{2+} 濃度が低下し、(f)血管径が拡張される様子が再現できている。高いずり応力に対しては、細胞内 Ca^{2+} 濃度、NO 濃度および血管径が増加していく特性も確認できる。



(4) モデル評価

FMD 検査時に得られたずり応力を入力としてシミュレーションを行った。図はシミュレーション結果であり、(a)ずり応力、(b)ずり応力に対する内皮細胞の膜変形量、(c)内皮細胞の細胞内 Ca^{2+} 濃度、(d)NO 産生濃度、(e)平滑筋細胞の細胞内 Ca^{2+} 濃度、(f)血管径を示している。青はシミュレーション結果、赤は FMD 検査時の観測データである。ずり応力では、FMD 検査時の特徴である駆血解放後に急激に増加する急峻な変化が確認できる。それに伴い、NO 濃度、血管径とずり応力から遅れて増加していく点は生理学的機序に従った応答といえる。



さらに、FMD 検査中の以下の特徴も良く再現している。

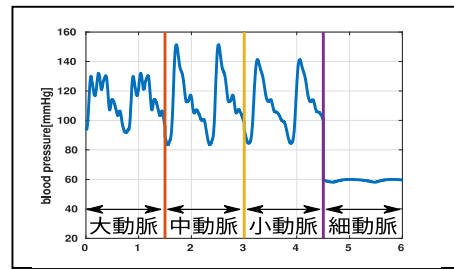
- ・ 駆血中 (5 分間) に血管径が収縮する。
- ・ 駆血解放から約 10 秒後に、血管が拡張し始める。
- ・ 駆血解放から約 1 分後に最大拡張径となる。

これらの特性は複数の被験者データで確認された。

(5)モデルの拡張

これまでの研究によって、細胞内のイオン動態を含めたずり応力から血管径変化までをシミュレーション可能なマルチスケールモデルが構築できた。モデルの妥当性も、FMD検査時の観測データと比較することで実証できた。構築したモデルを用いることで、疾病状態のシミュレーションも可能であり、観測データから機能障害を引き起こしている物質レベルの要因をシミュレーション解析することが可能となった。

こうしたマルチスケールモデルをさらに拡張するため、従来簡略化してきた末梢動脈を導入し、指尖容積脈波を含めたシミュレーション解析が可能なモデルの構築も進めた。すなわち、従来モデルの橈骨動脈セグメントに約23万個のセグメントから構成される末梢動脈モデルを接続し、血流動態モデルを構築した。安静時の血流動態の計測及びシミュレーションを行ったところ、各動脈（大動脈、中動脈、小動脈、細動脈）における血圧の変化特性、指尖容積脈波について、計測データを再現していることを確認した。すなわち、図に示すように、血圧値の幅が大動脈から中動脈では大きくなり、中動脈から小動脈では小さくなり、小動脈から細動脈では小さくなっている。さらに、内皮機能検査時に末梢動脈のシミュレーション結果を評価するため、FMD検査とRH-PAT検査を同時に行い、計測データをモデルにフィードバックしデータ同化を行った。その結果、駆血解放後の指尖での血流増加も再現され、指標であるRHI (Reactive Hyperemia Index) 値もほぼ一致することが確認された。これらの結果は、FMD検査、RH-PAT検査をモデル上で再現できることを意味している。従って、個人の計測データから数理モデルのパラメータを推定することで、動脈硬化を早期診断する手法が確立できると考えられる。



<引用文献>

- ① Mazzag, B. M. et al., A model for shear stress sensing and transmission in vascular endothelial cells, *Biophys J.*, 84, pp.4087-4101, 2003.
- ② Yang, J. et al., Mathematical modeling of the nitric oxide/cGMP pathway in the vascular smooth muscle cell, *Am J Physiol Heart Circ Physiol.*, 289, pp.H886-H897, 2005.
- ③ Yamazaki, Y. and Kamiyama, Y., Mathematical model of wall shear stress-dependent vasomotor response based on physiological mechanisms, *Computers in Biology and Medicine*, 45, pp.126-135, 2014.
- ④ 浅見直弥, 山崎陽一, 神山齊己, 血流依存性拡張反応時における血流シミュレーション, *電気学会論文誌C*, 138, pp.221-227, 2018
- ⑤ Tsukamoto, A. and Kamiyama, Y., Analysis of flow-mediated dilation by nitric oxide production model of vascular endothelial cells, *Proceedings of the 4th World Congress on Electrical Engineering and Computer Systems and Sciences (EECSS' 18) ICBES*, pp.148-1-148-5, 2018.
- ⑥ 塚本白, 神山齊己, 内皮細胞と平滑筋細胞を統合した血管マルチスケールモデルの構築, *電子情報通信学会技術研究報告*, 118(436, MBE2018-72), pp.75-78, 2019.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Tsukamoto Akira, Kamiyama Yoshimi	4. 巻 ICBES
2. 論文標題 Analysis of Flow-Mediated Dilation by Nitric Oxide Production Model of Vascular Endothelial Cells	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Proceedings of the 4th World Congress on Electrical Engineering and Computer Systems and Sciences	6. 最初と最後の頁 148-1 ~ 148-5
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.11159/icbes18.148	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Asami Naoya, Yamazaki Yoichi, Kamiyama Yoshimi	4. 巻 138
2. 論文標題 Blood Flow Simulation during Flow-Mediated Dilation	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 IEEJ Transactions on Electronics, Information and Systems	6. 最初と最後の頁 221 ~ 227
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1541/ieejeiss.138.221	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Asami, N., Yamazaki, Y., Kamiyama, Y.	4. 巻 July
2. 論文標題 Model evaluation-based approaches for endothelial function	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Engineering in Medicine and Biology Society (EMBC), 2017 39th Annual International Conference of the IEEE	6. 最初と最後の頁 2680-2683
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1109/EMBC.2017.8037409	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計7件（うち招待講演 0件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 小林航也、神山斉己
2. 発表標題 1次元血流動態モデルにおける血管狭窄シミュレーション
3. 学会等名 電気・電子・情報関係学会東海支部連合大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 北川潤、神山斉己
2. 発表標題 血流動態モデルにおける末梢抵抗推定の実験的評価
3. 学会等名 電気・電子・情報関係学会東海支部連合大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 塚本白、神山斉己
2. 発表標題 内皮細胞と平滑筋細胞を統合した血管マルチスケールモデルの構築
3. 学会等名 電子情報通信学会、MEとバイオサイバネティクス研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 浅見直弥、神山斉己
2. 発表標題 血流依存性血管拡張反応時の血流動態シミュレーション
3. 学会等名 電子情報通信学会、MEとバイオサイバネティクス研究会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 塚本白、浅見直弥、神山斉己
2. 発表標題 血管内皮細胞のNO産生モデルによる血流依存性拡張反応解析
3. 学会等名 ライフエンジニアリングシンポジウム
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 浅見直弥, 塚本白, 山崎陽一, 神山斉己
2. 発表標題 循環器系数理モデルによる血流依存性拡張反応時の血流波形解析
3. 学会等名 ライフエンジニアリングシンポジウム
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Tsukamoto, A., Asami, N., Kamiyama, Y.
2. 発表標題 Estimation of vascular peripheral resistance during FMD test using a hemodynamics simulation model
3. 学会等名 Engineering in Medicine and Biology Society (EMBC), 2017 39th Annual International Conference of the IEEE (国際学会)
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	浅見 直弥 (Asami Naoya)		
研究協力者	塚本 白 (Tsukamoto Akira)		
研究協力者	北川 潤 (Kitagawa Jun)		

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	小林 航也 (Kobayashi Kouya)		

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関